



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA-ESPAÑA (UCO)
UNIVERSIDAD DEL ZULIA-VENEZUELA (LUZ)
PROGRAMA DOCTORADOS CONJUNTOS



TESIS DOCTORAL

**Revisión sistemática de *Psidium* (Myrtaceae) en la región
occidental de Venezuela**

Doctoranda

Gisela del Carmen Rivero Maldonado

Directores

Dra. Darisol Pacheco Rivera

Dr. Luís Miguel Martín Martín

Córdoba, Octubre-2013

TITULO: *Revisión sistemática de Psidium (Myrtaceae) en la región occidental de Venezuela*

AUTOR: *Gisela del Carmen Rivero Maldonado*

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2014
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es

TÍTULO DE LA TESIS:

Revisión sistemática de *Psidium* (Myrtaceae) en la región occidental de Venezuela

DOCTORANDO/A:

Gisela del Carmen Rivero Maldonado.

INFORME RAZONADO DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

(Se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma)

A toda mi familia, especialmente a las mujeres más importantes de mi vida: mis hijas Gisbel e Isabel y a mi madre.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Dios por darme salud para poder culminar satisfactoriamente el arduo trabajo.

A toda mi familia por su infinita paciencia y apoyo incondicional, especialmente a mis hijas, mi madre y a mi amado esposo Betulio Sánchez.

Al Sr. Antonio Colina, por dedicarse en cuerpo y alma a su trabajo hasta el fin de sus días.

A mis directores de tesis los Doctores Darisol Pacheco y Luis Miguel Martín, quienes me brindaron sus valiosos conocimientos y experiencia en el campo científico, así como el apoyo y aliento para seguir adelante.

A mis amigos, siempre conmigo en toda meta emprendida.

A la Facultad de Agronomía y al Vice-rectorado Académico de la Universidad del Zulia (LUZ), instituciones de indispensable respaldo académico.

A mis compañeros del Departamento de Botánica de la Facultad de Agronomía de LUZ, especialmente los profesores Adriana Sánchez, Guillermo Sthormes, Maribel Ramírez y Ernesto Suárez, quienes realizaron valiosos aportes para la consecución de los objetivos trazados. Igualmente al profesor Jorge Ortega y a la profesora Magally Quirós y su equipo de trabajo, eternos asesores e incondicionales colaboradores.

Al Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología (FONACIT) y al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el financiamiento brindado a través de los proyectos de investigación FONACIT G-2002000588 y CC-0578-10.

Al Programa de Becas “Misión Ciencia”, del Ministerio de Ciencia y Tecnología, por el apoyo financiero prestado.

Al Doctor Gerardo Salazar y demás personal del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México UNAM, en cuyas instalaciones se

realizó el análisis molecular, fue una experiencia inolvidable la estancia en esa prestigiosa institución, gané grandes amigos.

A los herbarios venezolanos: HERZU, MY, MER y VEN por facilitar exsiccatas de sus colecciones para la realización de los diferentes análisis efectuados.

RESUMEN

Revisión sistemática de *Psidium* (Myrtaceae) en la región occidental de Venezuela

Esta investigación presentó como objetivo general realizar una revisión sistemática de especies de *Psidium* presentes en Venezuela, con énfasis en las reportadas para el occidente del país, así como estimar las relaciones filogenéticas entre representantes del género *Psidium* y entre taxa afines a partir de datos moleculares. Para llevar a cabo el primer propósito se utilizó información proveniente de análisis morfológicos, anatómicos y fitoquímicos, que mediante técnicas numéricas permitieron la agrupación o separación de las especies: *P. guajava*, *P. guineense*, *P. salutare* y *P. sartorianum*, las cuales se distribuyen en los estados occidentales Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia, y de *P. acutangulum*, *P. maribense* y *Calycolpus moritzianus*, incorporadas al estudio como taxa relacionados.

Lo estudiado contribuyó al tratamiento taxonómico del género *Psidium* en Venezuela, al realizarse una descripción detallada de dichas especies, donde se consideraron caracteres estructurales y presencia de flavonoides, que complementados con información relacionada al hábitat en el cual se desarrollan, permitieron la elaboración de una clave taxonómica para la distinción de las mismas. Así mismo, en la descripción se incluyeron datos de distribución geográfica y usos actuales y potenciales.

Con el análisis filogenético se determinó que las especies de *Psidium* seleccionadas específicamente en este estudio, conformaron un clado natural, ratificándose la monofilia reportada para éste género; esta agrupación se explicó con base a caracteres morfoanatómicos y de distribución geográfica.

Finalmente, se recomienda que se consideren los hallazgos generados en la presente investigación para el diseño de programas de selección y mejoramiento genético con fines agronómicos, tomando en cuenta el alto potencial frutícola que poseen las especies del género *Psidium* estudiadas.

INDICE GENERAL

	Pag.
Capítulo 1 Introducción general y objetivos	1
Capítulo 2 Análisis morfológico de especies de <i>Psidium</i> (MYRTACEAE) presentes en Venezuela.	8
Capítulo 3 Análisis anatómico de la lámina foliar de especies de <i>Psidium</i> (MYRTACEAE) presentes en Venezuela	54
Capítulo 4 Flavonoides presentes en especies de <i>Psidium</i> (MYRTACEAE) de Venezuela	110
Capítulo 5 Análisis fenético de especies de <i>Psidium</i> presentes en Venezuela	138
Capítulo 6 Relaciones filogenéticas entre especies de <i>Psidium</i> (Myrtaceae) presentes en el occidente de Venezuela a partir de secuencias de ADN nuclear (ITS) y plastidial (trnH-psbA)	177
Capítulo 7 Tratamiento taxonómico de especies de <i>Psidium</i> presentes en Venezuela	209
Conclusiones generales	266

CAPÍTULO I

Introducción general y objetivos

La familia Myrtaceae incluye aproximadamente 133 géneros y más de 3800 especies (Wilson *et al.*, 2001). Es una familia con considerables discordancias entre los autores en cuanto a circunscripción tanto de géneros como de especies, lo que ha dado base para la conducción de investigaciones relacionadas con tratamientos taxonómicos; sin embargo, la mayoría han sido realizados en grupos del paleotrópico, no dedicándose la debida atención a los taxa americanos (Lucas *et al.*, 2005).

En el país, las Mirtáceas ocupan el lugar número diecisiete en la lista de la flora vascular de Venezuela; existen 19 géneros, entre éstos *Psidium* con 13 especies ampliamente distribuidas en el territorio nacional (Hokche *et al.*, 2008). El género *Psidium* pertenece a la subfamilia Myrtoideae, tribu Myrteae y en él se agrupan importantes especies frutícolas, algunas de las cuales como la “Guayaba” (*P. guajava* L.), han sido ampliamente dispersadas a través de su cultivo (Mc Vaugh, 1968). Esta especie y *P. guineense* Sw., son las que se encuentran presentes en un mayor número de estados (12 y 17, respectivamente) (Pacheco *et al.*, 2011); la gran adaptabilidad de *P. guineense* a diversos ambientes, aunado a su rusticidad y potencial de crecimiento podría representar un aspecto a considerar en programas de mejoramiento genético de la guayaba, cuya superficie cultivada, específicamente en las zonas productoras del estado Zulia, ha mermado debido a factores antagónicos sobretodo de naturaleza biótica.

Aún cuando *Psidium* ostenta un importante lugar a nivel nacional y mundial dentro los rubros frutícolas, sus límites taxonómicos no han sido completamente dilucidados. Según Landrum y Sharp (1989) la definición del género ha sido una de las más difíciles dentro de las Mirtáceas, derivado de la existencia de tipos morfológicos muy semejantes entre sí, generándose con ello confusiones a nivel taxonómico.

Autores como Mc Vaugh (1968) consideraron en sus investigaciones lo anteriormente planteado, por lo cual diseñaron sus trabajos basándose en comparaciones de caracteres morfológicos; sin embargo, algunos rasgos no fueron consistentes, por lo que la tarea de circunscribir a las especies fue ardua. Otros de los inconvenientes derivados de los análisis morfológicos, son los planteados por

Sánchez-Vindas (1990), uno de ellos relacionado con la selección de las muestras, las cuales en su hábitat natural carecen en muchos casos de las estructuras reproductivas, representando un problema para su análisis; adicionalmente, el mismo autor plantea que las características florales y vegetativas son muy uniformes en toda la familia, haciendo difícil su separación. Un aspecto adicional tiene relación con lo complicado que significa la observación de características del embrión en material herborizado.

No obstante de toda la problemática planteada, se ha establecido que la botánica descriptiva puede aportar información para contribuir a la identificación de especies vegetales utilizando otras herramientas como la descripción anatómica (Fontenelle *et al.*, 1994). En Mirtáceas estos análisis se han realizado desde décadas, tales como los de Metcalfe y Chalk (1950). En el género *Eugenia* se llevó a cabo un estudio anatómico para identificar las especies considerando sólo estructuras vegetativas (Khatijah *et al.*, 1992).

Otra de las aplicaciones de los caracteres anatómicos es su importancia para estudios evolutivos en Myrtaceae y Myrtales, sin embargo, igualmente se ha coincidido en que pocos representantes de la flora neotropical han sido considerados en estos análisis (Gomes *et al.*, 2009).

En otros estudios se han tomado en cuenta evidencias quimio-taxonómicas para la delimitación de taxa afines y para esclarecer relaciones de parentesco, tales como la determinación de compuestos químicos volátiles realizada en el género *Eugenia*, lo cual generó importante información para la consecución de dichos objetivos (Cole *et al.*, 2007). No obstante, en Myrtaceae los estudios de este tipo son escasos; la mayoría de los que se han realizado hasta la actualidad han sido con el propósito de indagar la aplicabilidad medicinal de algunos representantes de la familia, aún cuando se ha resaltado la importancia de los metabolitos secundarios, entre estos los flavonoides, como importantes marcadores químicos (Nahrstedt y Butterweck, 1997).

Los estudios basados en rasgos moleculares aportan datos fidedignos para dilucidar la identidad entre taxa muy relacionados, ello amerita la incorporación del mayor número posible de especies para lograr análisis filogenéticos o de cladística, a fin de establecer analogías y diferencias derivadas de este tipo de caracteres, proporcionando información confiable para entender las relaciones entre los mismos.

Los pocos trabajos realizados en taxa de Mirtáceas americanas, incluyendo al género *Psidium*, catalogado como un grupo difícil de delimitar a nivel genérico, justifica la conducción de investigaciones donde se incorporen diversas fuentes de información para obtener un tratamiento taxonómico completo; los estudios de esta naturaleza demandan la inclusión del mayor número posible de taxa comparativos, a fin de obtener un análisis integral, ello depende de la disponibilidad de individuos en su hábitat natural y de especímenes en buen estado, en caso de recurrir a muestras herborizadas.

En el presente trabajo se seleccionó la región occidental de Venezuela por presentar un número significativo de especies del género *Psidium*, reportándose a *P. guajava*, *P. guineense*, *P. salutare* y *P. sartorianum*, distribuidas en diversos ambientes de los estados Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia; asimismo, se incluyeron las especies: *P. acutangulum*, *P. maribense* y *Calycolpus moritzianus* (anteriormente *P. caudatum*) como taxa comparativos. La investigación presentó como objetivo general realizar una revisión sistemática de especies de *Psidium* presentes en Venezuela, con énfasis en las reportadas para el occidente del país, a través de la consecución de los siguientes objetivos específicos:

1. Seleccionar y describir caracteres morfológicos, anatómicos y fitoquímicos que permitan la separación o agrupación de las especies del género *Psidium* estudiadas.
2. Establecer el grado de similitud morfológica, anatómica y fitoquímica entre las especies de *Psidium* analizadas, a través de un análisis fenético.

3. Estimar las relaciones filogenéticas entre representantes del género *Psidium* y entre taxa afines a partir de datos moleculares.

4. Contribuir al tratamiento taxonómico del género *Psidium* en Venezuela, mediante la descripción de las especies estudiadas y la elaboración de una clave taxonómica.

LITERATURA CITADA

- Cole R., W. Haber y W. Setzer. 2007. Chemical composition of essential oil of seven species of *Eugenia* from Monteverde, Costa Rica. *Biochemical Systematics and Ecology* 35: 877-886.
- Fontenelle, G., C. Costa y R. Machado. 1994. Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 115: 111-133.
- Gomes, S., N. Somavilla, K. Gomes-Bezerra, S. do Couto, P. De-Carvalho y D. Graciano-Ribeiro. 2009. Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomía e filogenia. *Acta Botanica Brasilica* 23: 223-238.
- Hokche, O., P. Berry y O. Hubber. 2008. Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. 859 p.
- Khatijah H., D. Cutler y D. Moore. 1992. Leaf anatomical studies of *Eugenia* L. (Myrtaceae) species from the Malay Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society* 110: 137-156.
- Landrum L. y W. Sharp. 1989. Seed coat characters of some American Myrtinae (Myrtaceae): *Psidium* y related genera. *Systematic Botany* 14: 370-376.
- Lucas, E., S. Belsham, E. Nic Lughadha, D. Orlovich, C. Sakuragui, M. Chase y P. Wilson. 2005. Phylogenetic patterns in the fleshy-fruited Myrtaceae- preliminary molecular evidence. *Plant Systematics and Evolution*. 251: 35-51.
- Mc Vaugh, R. 1968. The genera of American Myrtaceae- An Interim report. *Taxon*.17: 354-415.
- Metcalfe, C. y L. Chalk. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons*. Oxford, Clarendon Press. Ed. 2. Vol I.

Nahrstedt A. y V. Butterweck. 1997. Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry* 30 (Suppl.), 129-134.

Pacheco, D., G. Rivero, J. Fuenmayor, A. Sánchez, M. Quirós, J. Ortega y G. Sthormes. 2011. Aportes al estudio del género *Psidium* (Myrtaceae) en Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*. 28 Supl. 1: 181-189.

Sánchez-Vindas, E. 1990. Flora de Veracruz. Fascículo 62 (Myrtaceae). Instituto de Ecología, A.C. Xalapa. México y University of California Riverside, California. EEUU. 146 p.

Wilson, P.; O'Brien, M.; Gadeg, P. y Quinn, C. 2001. Myrtaceae revisited: A reassessment of infrafamilial groups. *American Journal of Botany* 88: 2013-2025.

CAPÍTULO II

Análisis morfológico de especies de *Psidium* (MYRTACEAE) presentes en Venezuela

Gisela Rivero-Maldonado , D. Pacheco, J. Fuenmayor, A. Sánchez , M. Quirós , J. Ortega, B. Bracho y J. Taborda. 2012. Análisis morfológico de especies de *Psidium* (MYRTACEAE) presentes en Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía de LUZ. 29: 72-103.

RESUMEN

La familia Myrtaceae se encuentra distribuida en zonas tropicales y subtropicales. En Venezuela, se menciona la presencia de 19 géneros y cerca de 246 especies. Para el género *Psidium* se han registrado 13 especies distribuidas en 23 entidades del país. El propósito de este trabajo fue comparar las características morfológicas útiles para el reconocimiento de especies de *Psidium*. El análisis se basó principalmente en la revisión de especímenes de los herbarios VEN, MER, MY y HERZU, complementada con material de reciente búsqueda en el campo. Las especies estudiadas fueron: *P. acutangulum*, *P. densicomum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. personii*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus*, provenientes de 20 estados del país. Se elaboró una matriz de datos considerando a las nueve especies y 15 características morfológicas (11 vegetativas y cuatro reproductivas), seleccionadas de una lista de 49 caracteres estudiados. Se realizó un análisis de conglomerado utilizando el procedimiento Cluster del programa SAS®. Las especies se reunieron y diferenciaron en dos grupos, donde el grupo I estuvo representado por las especies *P. acutangulum*, *P. personii*, *P. densicomum*, *P. guajava* y *P. guineense*, caracterizadas principalmente por presentar hojas erectas, relación largo-ancho de la hoja media o baja, curvatura del nervio medio ausente y cuatro o cinco sépalos en la flor. El grupo II estuvo conformado por *Calycolpus moritzianus*, *P. maribense*, *P. sartorianum* y *P. salutare*, similares morfológicamente por presentar hojas erectas, flores solitarias o cimas bíparas y de cuatro o cinco sépalos. En general, los caracteres más útiles para diferenciar a las especies fueron todos vegetativos.

Palabras clave: *Psidium*, morfología, caracterización, agrupamiento, clave taxonómica.

Morphologic analysis of *Psidium* species (MYRTACEAE) present in Venezuela

ABSTRACT

The Myrtaceae family is distributed in the tropics and subtropics. In Venezuela, it is mentioned that there are 19 genera and about 246 species. For the genus *Psidium* there have been 13 species distributed in 23 states of the country. The purpose of this study was to compare the morphological characteristics that are useful for species recognition of *Psidium*. The analysis is based primarily on the revision of herbarium specimens of VEN, MER, MY and HERZU, supplemented with specimens collected recently from the field. The species studied were: *P. acutangulum*, *P. densicomum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. persoonii*, *P. salutare*, *P. sartorianum* and *Calycolpus moritzianus* from 20 states. A data matrix considering nine species and 15 morphological characteristics (11 vegetative and four reproductive), selected from a list of 49 traits was made. A cluster analysis using the Cluster procedure of SAS® was realized. The species were collected and differentiated into two groups, where the group I was represented by the species *P. acutangulum*, *P. persoonii*, *P. densicomum*, *P. guineense* and *P. guajava* characterized principally by the presence of erect leaves, length-width of the medium sheet or low curvature of midrib absent and four or five sepals in the flower. Group II consisted of *Calycolpus moritzianus*, *P. maribense*, *P. sartorianum* and *P. salutare*, morphologically similar for presenting erect leaves, solitary flowers or biparas tops and four or five sepals. In general, the most useful characters to differentiate species were all vegetative.

Key words: *Psidium*, morphology, characterization, clustering, taxonomic key.

INTRODUCCIÓN

Las Mirtáceas americanas, excepto para el monotípico género chileno *Tepualia*, pertenecen al grupo de frutos carnosos que para el tiempo de De Candolle fue reconocido dentro de la tribu Myrteae. Dentro de las principales contribuciones al conocimiento de las especies y géneros americanos se encuentran las realizadas por De Candolle en 1828 y por Berg entre 1855-1862; el número de especies descritas es muy largo, especialmente en Suramérica tropical. Posiblemente, la mayor contribución de Berg a la taxonomía de la tribu Myrteae fue su detallada y extensa descripción, y el reconocimiento de la importancia de la estructura del ovario inmaduro; sus descripciones a menudo incluían dimensiones de las hoja y partes florales, detalles de la placentación y número de lóculos en el ovario; mientras que los aportes de De Candolle fueron sus razonables presunciones basadas sobre el estudio del embrión maduro, aunque de relativamente pocas especies. Las contribuciones más importantes para el conocimiento de los géneros tropicales americanos fueron hechas por Mc Vaugh entre 1956 y 1968.

Sánchez-Vindas (1990), refiere como caracteres importantes para distinguir a la familia Myrtaceae, entre otras, el número de lóbulos de cáliz, las yemas florales, y algunas características de las inflorescencias, adicionalmente, propone como rasgo importante el ángulo de inclinación de los nervios laterales, tomando como referencia el nervio central (90°), considerándolo de gran ayuda para la separación de especies muy relacionadas. Sin embargo, refiere que uno de los principales problemas en las identificaciones taxonómicas, es la imposibilidad de encontrar las plantas con flores y frutos al mismo tiempo; además que las características florales y vegetativas son muy uniformes en toda la familia; por otro lado, considera que a pesar que las características embrionarias son las más importantes para la determinación genérica, no son fáciles de observar en material seco.

Myrtaceae- s.s., es una familia con considerables discordancias entre los autores en cuanto a circunscripción tanto de géneros como de especies; en su

mayoría los principales estudios se han realizados en géneros del paleotrópico, sobre todo australianos, mientras que sólo algunos de los grupos americanos han sido revisados a través de deficientes análisis sistemáticos (Lucas *et al.*, 2005). En la investigación de Gomes *et al.* (2009), quienes destacaron la importancia de los caracteres anatómicos para estudios taxonómicos y evolutivos de Myrtaceae y Myrtales, igualmente se resaltó que pocos representantes de la flora tropical han sido incluidos en éstos análisis, principalmente los de la tribu Myrteae.

Landrum y Sharp (1989), establecieron que la definición del género *Psidium* ha sido una de las más difíciles dentro de las Mirtáceas. Estos investigadores realizaron una descripción de sus especies, considerando características de las cubiertas de las semillas, con la finalidad de distinguirlas de otros géneros americanos relacionados. *Psidium* pertenece a la subtribu Myrtinae, la cual incluye aquellos géneros con frutos carnosos y embriones que tienen relativamente un hipocótilo largo y estrecho, y usualmente cotiledones cortos. Los géneros de Myrtinae pueden dividirse en dos grandes grupos, basado en la textura de la cubierta de la semilla y estructura del embrión. Aquellos que normalmente tienen cubiertas de semilla membranosas e hipocótilo engrosado, el cual es usualmente más ancho que los cotiledones, han sido asignados al complejo *Campomanesia*. *Psidium* pertenece a los géneros restantes, que poseen una cubierta de la semilla dura y ósea, con una cavidad interna en forma de “C”, en el cual el embrión se desarrolla y emerge por medio de un opérculo.

Mc Vaugh en muchos de sus trabajos discutió la historia y los problemas asociados a los límites genéricos de *Psidium*. Las características que tradicionalmente han sido utilizadas para definir a éste género son: flores en pedúnculos axilares, solitarias unifloros o inflorescencias racemosas o en dicasios 3-floros, flores pentámeras, usualmente de 3-5 lóculos por ovario, placenta bilamelar que siempre se extiende en una estructura peltada, y especialmente un cáliz cerrado o aproximadamente cerrado que rompe en valvas irregulares durante la antesis. En su tratamiento de los géneros americanos de Myrtaceae éste autor enfatizó en la condición del cáliz para distinguir a *Psidium* de otras especies americanas de *Myrtus*,

determinando que muchas de las especies de *Psidium* tienen un cáliz que es esencialmente abierto, pero que existe normalmente alguna fusión entre sus lóbulos.

En otros géneros de Myrtinae esta característica es menos común. Desafortunadamente, no todos estos rasgos anteriormente mencionados están presentes en todas las especies de *Psidium*, es por eso que ha sido muy difícil circunscribir a las especies de éste género (Mc Vaugh, 1968).

Por otro lado, según Bruce *et al.*, (2003) las grandes variaciones en el estimado del número de especies dentro del género *Psidium* es producto de la existencia de complejos de entidades que pueden por sí mismas ser consideradas especies sencillas o grupos de especies, tal como es el caso de los complejos conformados por *P. guineense* y *P. salutare*.

En Venezuela se reportan 13 especies de *Psidium* ampliamente distribuidas, las cuales se desarrollan preferentemente en las zonas cálidas y soleadas del norte del país, desde el nivel del mar hasta más o menos 1800 m de altitud, siendo *P. guineense* Sw. y *P. guajava* L. las que se encuentran presentes en un mayor número de estados (19 y 13, respectivamente), seguidas por *P. salutare*, *P. sartorianum* y *P. acutangulum*. En cuanto a las entidades con mayor número de especies, los primeros lugares los ocupan Bolívar, Amazonas, Anzoátegui, Zulia, Guárico, Miranda, Monagas, Lara, Nueva Esparta y Mérida (Hokche *et al.*, 2008).

El presente trabajo presentó como objetivo principal: identificar y comparar características morfológicas tanto cualitativas como cuantitativas útiles para el reconocimiento de especies de *Psidium* provenientes de distintos estados de Venezuela, y como objetivos específicos: 1. Seleccionar y describir los principales caracteres morfológicos que permitirán la separación o agrupación de especies del género *Psidium* y 2. Elaborar una clave morfológica para el reconocimiento de las mismas.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el Herbario HERZU, Departamento de Botánica, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia. El material vegetal utilizado consistió de muestras herborizadas de especies del género *Psidium* recolectadas en diversas zonas del país, las cuales se solicitaron en calidad de préstamo a los siguientes herbarios: Herbario Nacional de Venezuela (VEN), Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (MER), Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (MY) y el Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia (HERZU). También se incluyeron muestras recolectadas recientemente en los estados Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia, entidades del país, según registros, con alto número de especies de éste género.

Las especies analizadas fueron las siguientes: *Psidium acutangulum*, *P. densicomum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. personii*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus*, anteriormente nominado como *P. caudatum*, con características morfológicas similares a *Psidium*, por lo cual se incluyó como grupo comparativo; igualmente, se incorporaron al análisis otros especímenes no identificados hasta nivel de especie (indeterminadas), ya que presentaban una o varias características que no correspondían con ninguna de las especies nominadas; la decisión de incluir en el análisis estos individuos se realizó con la finalidad de que el procedimiento estadístico empleado los agrupara con alguna de las especies estudiadas a fin de contribuir a su identificación.

Se estudiaron un total de 213 ejemplares que incluían a las nueve especies identificadas, más los ejemplares indeterminados; el número de repeticiones varió de 5 hasta 10 ejemplares por espécimen, dependiendo de la disponibilidad y considerando muestras completas y en buen estado, promediando los valores medidos de las estructuras vegetativas y/o reproductivas para cada ejemplar. También se incluyó como carácter resaltante la presencia de brácteas florales, el cual

no fue considerado en los descriptores usados. Esta información fue complementada con la que indicaba la etiqueta del ejemplar examinado y con datos bibliográficos.

Para la caracterización y medición de los ejemplares se tomaron como referencias principales el modelo de descriptor botánico propuesto por Sánchez-Urdaneta y Peña-Valdivia (2011) y el manual publicado por la International Union For The Protection of New Varieties of Plants (UPOV, 1987), así como también otras descripciones del género *Psidium* reportadas en trabajos florísticos realizados para algunos estados del país. Como instrumento de medición para las características morfológicas se usó un vernier digital y una lupa estereoscópica marca ACCU-SCOPE, con un micrómetro incorporado.

La información obtenida se reunió en una matriz de datos elaborada con el programa Microsoft Windows Excel, y posteriormente se analizó a través de técnicas multivariadas, usando el programa SAS 9.1.3 aplicando el procedimiento Cluster.

Para el análisis cluster se consideraron nueve especies y 15 características morfológicas, de la cuales 11 fueron vegetativas y cuatro reproductivas (cuadro 1).

Cuadro 1. Caracteres vegetativos y reproductivos de especies de *Psidium* considerados para el análisis Cluster

Carácter	Tipo de carácter
1. Orientación de hojas	Vegetativo
2. Forma de la hoja	Vegetativo
3. Longitud de la hoja	Vegetativo
4. Ancho de la hoja	Vegetativo
5. Relación largo-ancho de la hoja	Vegetativo
6. Pubescencia en el envés de la hoja	Vegetativo
7. Pubescencia en el haz de la hoja	Vegetativo
8. Curvatura del nervio medio	Vegetativo
9. Filotaxia	Vegetativo
10. Pares de nervaduras	Vegetativo
11. Tipo de inflorescencia	Reproductivo
12. Longitud del pedicelo	Reproductivo
13. Número de sépalos	Reproductivo
14. Relación largo/ancho de los sépalos	Reproductivo
15. Presencia de estípulas	Vegetativo

Estas características fueron seleccionadas de una matriz de 49 caracteres morfológicos evaluados; sin embargo, sólo se consideraron aquellos que presentaron menos datos perdidos, con el fin de lograr uniformidad en los resultados.

Por último, se elaboró una clave con las características morfológicas útiles para identificar las especies y se describieron las mismas. Se seleccionaron 11 caracteres vegetativos y 17 reproductivos, por ser los que presentaban datos más completos y en donde se observó una mayor variabilidad de los mismos. En algunos casos, para uniformizar y complementar las descripciones de las especies se tomó información de fuentes bibliográficas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

I. Análisis Cluster

En la figura 1 se muestra el dendrograma obtenido a través del análisis de conglomerado o cluster, en donde se puede observar que las especies de *Psidium* analizadas se concentraron en dos grupos. El grupo I, representado por las especies *P. guajava*, *P. guineense*, *P. densicomun*, *P. acutangulum* y *P. personii*, y el grupo II representado por *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum*, *Calycolpus moritzianus* y los ejemplares indeterminados.

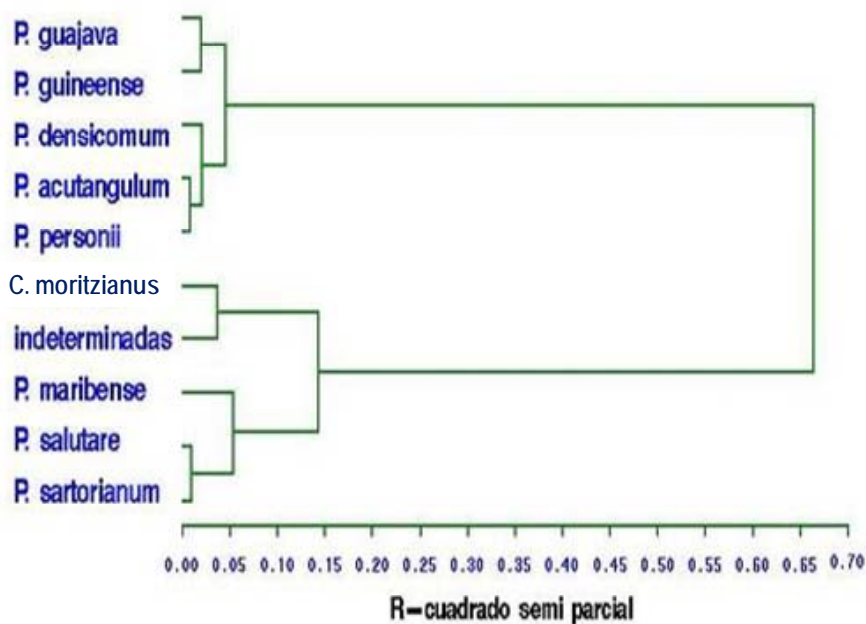


Figura 1. Dendrograma de agrupamiento de nueve especies de *Psidium*

En general, el grupo I se caracterizó por presentar: hojas erectas, relación largo/ancho de la hoja media o baja, curvatura del nervio medio ausente y cuatro ó cinco sépalos. Este a su vez, se dividió en dos subgrupos, el subgrupo 1 conformado

por las especies *P. acutangulum*, *P. persoonii* y *P. densicomum* y el subgrupo 2, conformado por las especies *P. guajava* y *P. guineense*.

En el subgrupo 1, las especies *P. acutangulum* y *P. persoonii* demostraron ser más afines morfológicamente, difiriendo sólo en la filotaxia de sus hojas. En *P. acutangulum* fueron opuestas mientras que *P. persoonii* presentó hojas opuestas decusadas. Estas especies presentaron similitud en cuanto a la forma de las hojas (elípticas); también fueron similares en longitud, ancho y relación largo/ancho de la hoja, siendo *P. persoonii* en donde se encontró una mayor longitud de la hoja en todo el grupo I, con valores entre 9,5 y 10,5 cm.

También fueron similares estas dos especies en la ausencia de pubescencia en ambas caras de la hoja, pares de nervaduras entre 10 y 16 ó en algunos casos mayor a 16 pares para *P. acutangulum* y entre 10 y 16 para *P. persoonii*, igualmente presentaron flores solitarias con cuatro o cinco sépalos y estípulas caedizas.

La especie *P. densicomum* también se reunió en este subgrupo, compartiendo características con *P. acutangulum* y *P. persoonii* tales como: la presencia de hojas opuestas decusadas y glabras en ambas caras, pares de nervadura entre 10 y 16 la presencia de flores solitarias con pedicelos de longitud entre 1,5 a 3 cm, 5 sépalos y estípulas caedizas. Esta especie fue diferente a todo el grupo I en cuanto a que presentó hojas lanceoladas, su longitud y ancho fueron de 2,5 a 4,5 cm y 2,3 a 3,5cm, respectivamente (cuadro 2).

Considerando la alta similitud morfológica que presentaron *P. persoonii* y *P. densicomun* y *P. acutangulum*, diferenciándose sólo por algunos caracteres que pueden derivarse de efectos ambientales, tal como la forma de la lámina foliar, se propone la sinonimia entre estas tres especies, razón por lo cual para efectos de este trabajo las dos primeras se reclasificaron a *P. acutangulum*; no obstante, al igual que para las otras especies, se les realizó su descripción y se incluyeron en la clave taxonómica.

Estas determinaciones coinciden en parte con lo reportado en el nuevo Catálogo de la Flora Vascular de Venezuela, donde la especie *P. persoonii* es reclasificada a *P. acutangulum* (Hokche *et al.*, 2008).

Cuadro 2. Especies de *Psidium* que conformaron el grupo I en el análisis duster con sus caracteres morfológicos.

Especies	Orientación de las hojas	Forma de la hoja	Longitud de la hoja (cm)	Ancho de la hoja (cm)	Relación largo/ancho
* <i>P. acutangulum</i>	Erectas	elíptica	7,0 a 10,5	4,0 a 5,0	media o baja
* <i>P. persoonii</i>	Erectas	elíptica	9,5 a 10,5	3,5 a 4,5	media
* <i>P. densicomum</i>	Erectas	lanceoladas	2,5 a 4,5	2,5 a 4,5	media o baja
** <i>P. guajava</i>	Erectas	oval o elíptica	5,0 a 11,0	3,8 a 4,7	media
** <i>P. guineense</i>	Erectas	oval o elíptica	7,0 a 12,0	3,5 a 6,0	media

Especies	Pubescencia en el envés de la hoja	Pubescencia en el haz de la hoja	Curvatura del nervio medio	Filotaxia	Pares de nervaduras
* <i>P. acutangulum</i>	ausente	ausente	ausente	O	media o alta
* <i>P. persoonii</i>	ausente	ausente	ausente	OD	media
* <i>P. densicomum</i>	ausente	ausente	ausente	OD	media o alta
** <i>P. guajava</i>	densa	media	ausente	OD	alta
** <i>P. guineense</i>	mediana o densa	esparcida	ausente	OD	media o baja

Especies	Tipo de Inflorescencia	Longitud del pedicelo (cm)	Número de sépalos	Relación largo-ancho de los sépalos	Presencia de estípulas
* <i>P. acutangulum</i>	flor solitaria	2,0 a 3,0	4 o 5	1,34	caedizas
* <i>P. persoonii</i>	flor solitaria	1,5 a 3,0	4	1,45	caedizas
* <i>P. densicomum</i>	flor solitaria	3,00	5	1,24	caedizas
** <i>P. guajava</i>	flor solitaria, cima bipara o ambas	1,0 a 2,00	4	1,48	caedizas
** <i>P. guineense</i>	flor solitaria o cima bipara	0,9 a 2,15	5	1,49	persistentes

Filotaxia: O= Opuesta; OD= Opuesta decusada

*subgrupo 1, ** subgrupo 2

En el subgrupo 2, las especies *P. guajava* y *P. guineense* presentaron diferencias en cuanto al grado de pubescencia de las hojas, siendo densa en el envés y media en el haz para *P. guajava*, y media o densa en el envés y esparcida en el haz para *P. guineense*. Estas especies también presentaron diferencias en cuanto al número de pares de nervaduras, donde en *P. guineense* fue menor a 10 pares o entre 10 a 16 pares en algunos casos, mientras que para *P. guajava* fue más de 16 pares de nervadura, lo que permitió diferenciar esta especie de todo el resto del grupo I.

Según Mc Vaugh (1963), una de las características que permitieron diferenciar a *P. guajava* y *P. guineense* es el número promedio de venas en las hojas; otras fueron: el grado de inclinación de las venas laterales, la prominencia de las venas pequeñas en las hojas de especímenes secos, los brotes grandes y cerrados de *P. guajava* y el largo pedúnculo de *P. guineense*.

El tipo de inflorescencia también fue determinante, ya que *P. guajava* presentó flores solitarias, cima bípara o ambas, y *P. guineense* presentó flores solitarias o cimas bíparas, en ningún caso ambas; también difirieron en cuanto al número de sépalos, que para *P. guajava* fueron 4 y para *P. guineense* 5 sépalos; la presencia de estípulas fue caedizas en *P. guajava* y persistente en *P. guineense*, que para este último caso difirió de todo el grupo I (cuadro 2). Con relación a las inflorescencias, Mc Vaugh (1963) estableció que un carácter muy útil para distinguir a estas dos especies tiene relación con el número de flores, el cual fue generalmente una para *P. guajava* y siempre tres para *P. guineense*, no coincidiendo con lo observado en esta investigación.

Es importante acotar que se han relacionado ciertos patrones de floración con mecanismos de especialización a través de la evolución de Myrtinae; en todas la Myrteae americanas la flor solitaria es subtendida por un par de bractéolas, es decir la ramificación axilar en su primer nudo termina en una flor; se presume que aquellas plantas que presentan una flor solitaria es característico de las Myrteae primitivas, y que los otros tipos de inflorescencias han sido producto de la evolución a través de

cambios en el arreglo de las flores sobre las ramas. Es probable incluso encontrar flores solitarias y dicasios de 3 flores en diferentes axilas de una misma planta (Mc Vaugh, 1968).

Bruce *et al.*, (2003), señalaron que *P. guineense* es comúnmente hibridizada con *P. guajava*; individuos intermedios pueden ser reconocidos por presentar una combinación de caracteres, tales como ramas jóvenes cuadrangulares, característico de *P. guajava*, y tricomas erectos de coloración marrón rojiza en la superficie abaxial de las hojas de *P. guineense*.

El grupo II, de manera general, se caracterizó por presentar hojas erectas, flores solitarias o cimas bíparas y cuatro o cinco sépalos. Este grupo a su vez, se dividió en dos subgrupos, el subgrupo 3 conformado por las especies *P. maribense*, *P. sartorianum* y *P. salutare* y el subgrupo 4 conformado por la especie *C. moritzianus* y los ejemplares indeterminados (figura 1).

En el subgrupo 3 las especies *P. sartorianum* y *P. salutare* presentaron semejanzas en cuanto a la orientación de las hojas, siendo estas erectas, de filotaxia opuestas decusadas y de forma elíptica u oblonga, relación largo/ancho de la hoja con un valor medio o alto, ausencia de curvatura del nervio medio, pares de nervaduras menor a 10 y flores solitarias o cimas bíparas.

Las diferencias se derivaron al comparar la longitud y ancho de la hoja, que en *P. sartorianum* fue en promedio 3,9 cm y 1,3 cm, y en *P. salutare* 4,5 cm y 2 cm, respectivamente. También se diferenciaron en cuanto a la pubescencia, que en *P. sartorianum* fue ausente tanto en el haz como en el envés, mientras que para *P. salutare* fue esparcida en ambas caras de la hoja; también se presentaron diferencias en la longitud del pedicelo y en cuanto al número de sépalos, siendo 4 y 5 para *P. sartorianum* y *P. salutare*, respectivamente; sus estípulas fueron para la primera especie persistentes y caedizas para la segunda.

P. sartorianum es una especie ampliamente dispersada en América tropical, presente en bosques y sabanas por encima de los 1500 m, desde México al norte de Colombia y Venezuela, mientras que *P. salutare* se localiza en altitudes alrededor de los 1000 m, desde México a Guianas, muy abundante en sabanas (Mc Vaugh, 1963).

La especie *P. maribense* conformó también el subgrupo 3, aunque fue la que más se distanció, compartiendo 12 características las cuales fueron la presencia de hojas erectas, de forma oval, y relación largo/ancho de la hoja, media o alta, con pubescencia esparcida en ambas caras y curvatura del nervio medio ausente. También presentó menos de 10 pares de nervaduras, flores solitarias y estípulas caedizas. Esta especie fue diferente a las dos especies anteriores en la longitud del pedicelo, la cual fue igual a 2,6 cm, representando el valor más alto del grupo II (cuadro 3).

Cuadro 3. Especies de *Psidium* que conformaron el grupo II en el análisis cluster con sus caracteres morfológicos.

Especies	Orientación de las hojas	Forma de la hoja	Longitud de la hoja (cm)	Ancho de la hoja (cm)	Relación largo/ancho
* <i>P. sartorianum</i>	erectas	elíptica u oblonga	2,8 a 5,0	1,2 a 1,4	media o alta
* <i>P. salutare</i>	erectas	elíptica	4,0 a 5,0	1,5 a 2,5	media
* <i>P. maribense</i>	erectas	elíptica u oval	3,0 a 5,0	1,0 a 2,0	media o alta
** <i>C. moritzianus</i>	erectas	elíptica o lanceolada	4,5 a 7,5	1,5 a 2,5	alta
** <i>P. sp</i>	erectas	elíptica, obovada u oval	4,9 a 12,9	1,8 a 6,4	media
Especies	Pubescencia en el envés de la hoja	Pubescencia en el haz de la hoja	Curvatura del nervio medio	Filotaxia	Pares de nervaduras
* <i>P. sartorianum</i>	ausente	ausente	ausente	OD	baja
* <i>P. salutare</i>	esparcida	esparcida	ausente	OD	media o baja
* <i>P. maribense</i>	esparcida	esparcida	ausente	O	media
** <i>C. moritzianus</i>	ausente	ausente	media	OD	alta
** <i>P. sp</i>	ausente o presente	ausente o presente	leve	OD, O	alta, media o baja
Especies	Tipo de Inflorescencia	Longitud del pedicelo (cm)	Número de sépalos	Relación largo/ancho de los sépalos	Presencia de estípulas
* <i>P. sartorianum</i>	flor solitaria	0,8 a 1,3	4	1,12	persistentes
* <i>P. salutare</i>	flor solitaria o cima bípala	1,0 a 1,5	5	1,34	caedizas
* <i>P. maribense</i>	flor solitaria	0,5 a 1,5	4	2,61	caedizas
** <i>C. moritzianus</i>	flor solitaria o cima bípala	2,5 a 3,2	5	2,90	persistentes
** <i>P. sp</i>	flor solitaria, cima bípala o ambas	0,4 a 2,1	4 o 5	1,39	caedizas o persistentes

Filotaxia: O= opuesta; OD= opuesta decusada.

* subgrupo 3, ** subgrupo 4

En el Subgrupo 4, *C. moritzianus* presentó características específicas que permitieron unirla al grupo II; sin embargo, se diferenció del resto de las especies del grupo, por presentar una longitud de hoja de 4,5 a 7,5 cm y una alta relación largo/ancho de la hoja, una curvatura leve en el nervio medio, más de 16 pares de nervaduras y una longitud del pedicelo mayor al resto del grupo con un valor de 2,5 a 3,2 cm.

Esta especie guardó similitud al subgrupo 3 en cuanto a que presentó hojas erectas, elípticas y opuestas decusadas, de 1,5 a 2,5 cm de ancho, pubescencia ausente en ambas caras, flores con 4 sépalos, solitarias o en cimas bíparas, coincidiendo esto último con las observaciones de Landrum y Sharp (1989). Cabe resaltar que ésta especie y las plantas indeterminadas fueron los taxa que más se alejaron del grupo II (cuadro 3).

Según Mc Vaugh (1968), todos los autores del tiempo de Berg reconocen al género *Calycolpus*, acordando en que es el que mejor “dibuja” la línea de separación entre *Psidium* y *Myrtus*. Riley, citado por el autor, refirió que *Calycolpus* se puede distinguir de géneros como *Campomanesia*, *Myrtus* y *Psidium* por sus sépalos, los cuales abren libremente, mientras que en *Psidium* forman un cáliz cerrado o semi-cerrado, el cual se divide dentro de los segmentos de las flores expandidas.

Las flores de *Calycolpus* se presentan en racimos cortos, solitarias, axilares o caulifloras, sus frutos son bayas subglobosas con un embrión encorvado. En el nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela *P. caudatum* se ubicó dentro del género *Calycolpus*, corroborando las evidentes diferencias morfológicas entre los dos géneros (Hokche *et al.*, 2008).

En cuanto al material considerado como indeterminado hasta nivel de especie, no pudo lograrse una clara separación entre los mismos que permitiera una correcta identificación taxonómica, por lo que quizás hizo falta incluir otras

características morfológicas en el análisis, aplicar otro procedimiento más adecuado, o tener una data más completa. No obstante, el agrupamiento de estos especímenes con *Calycopus moritzianus*, permite inferir que son especies que no corresponden al género *Psidium*.

II. Clave para la identificación de las especies de *Psidium*

1. Árboles de 1 a 6 m de altura.....2
 2. Hojas opuestas; pares de nervaduras entre 10 y 16.....3
 3. Lámina foliar de 1 a 5 cm de largo y 1 a 3 cm de ancho, pubescencia esparcida en ambas caras; estípulas caedizas. Flores solitarias con ocho (8) pétalos.....*P. maribense*
 - 3'. Lámina foliar de 6 a 10,5 cm de largo y 4 a 5 cm de ancho, pubescencia ausente en ambas caras; estípulas caedizas. Flores solitarias.....*P. acutangulum*
 - 2'. Hojas opuestas decusadas4
 4. Lámina foliar de 1 a 5 cm de largo y 1 a 3 cm de ancho.....5
 5. Pares de nervaduras entre 10 y 16, en algunos casos menos de 10 pares, pubescencia presente, esparcida en ambas caras; estípulas caedizas. Flores solitarias o en cimas bíparas, acompañadas por brácteas; pedicelo de 1- 1,5 cm de longitud; 5 pétalos de 0,6 cm de longitud y 0,38 cm de ancho.....*P. salutare*
 - 5'. Pares de nervaduras menores a 10, pubescencia ausente en ambas caras, estípulas persistentes. Flores solitarias, sin brácteas; pedicelo de 0,8 a 1, 3 cm de longitud; 4 pétalos de 0,3 a 0,4 cm de longitud y 1,1 cm de ancho.....*P. sartorianum*
 - 4'. Lámina foliar mayor a 5 cm de largo y mayor a 2 cm de ancho.....6
 6. Pares de nervaduras entre 10 y 16 o en algunos casos mayor a 16 pares.....7
 7. Pubescencia ausente en ambas caras de la lámina; estípulas caedizas. Flores solitarias; pedicelo de 3 cm de longitud.....*P. densicomum*

- 7'. Pubescencia presente en ambas caras, más densa en el envés; estípulas caedizas. Flores solitarias, en cimas bíparas o ambas; pedicelo de 1-2 cm de longitud.....*P. guajava*
- 6'. Pares de nervaduras entre 10 y 16 o en algunos casos menor a 10 o en otros mayor a 16.....8
8. Pares de nervaduras entre 10 y 16 o en algunos casos menor a 10 pares, pubescencia densa en el envés y esparcida en el haz; estípulas persistentes. Flores solitarias o cimas bíparas con pedicelo de 0,9 a 2,15 cm de longitud; pétalos de 1 cm de largo y 1,4 cm ancho. Fruto globoso o piriforme de 1 cm de largo y 2,5 cm de ancho, de verde a amarillento al madurar.....*P. guineense*
- 8'. Pares de nervaduras entre 10 y 16 pares o en algunos casos mayor a 16 pares, pubescencia presente en ambas caras, más densa en el envés; estípulas caedizas. Flores solitarias, en cimas bíparas o ambas; pedicelo de 1-2 cm de longitud; pétalos de 1,5-2 cm de largo y 0,9-1,2 cm de ancho. Fruto globoso a piriforme u ovado de 2-6 cm de largo y 3,8 cm de ancho de verde a amarillo o amarillo-rosado al madurar.....*P. guajava*
- 1'. Árboles mayores a 6 m de altura.....9
9. Hojas opuestas decusadas, curvatura del nervio medio ausente; pares mayor a 16; longitud del limbo foliar de nervadura 9,5 a - 10,5 cm y 3,5 a 4,5 cm de ancho; estípulas caedizas. Flores solitarias.....*P. persoonii*
- 9'. Hojas opuestas decusadas, con nervio medio leve o medianamente curvo, pares de nervaduras mayor a 16, lámina foliar de 4,5 a 7,5 cm de longitud y 2,5 cm

de ancho; estípulas persistentes. Flores solitarias o en
cimas bíparas.....*Calycolpus moritzianus*

III. DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES

***Psidium acutangulum* DC.**

Árbol de aproximadamente 3,5 m de altura, hojas erectas, número de pares de nervaduras mediana o alta, predominantemente opuestas, de forma elíptica, longitud entre 7 y 10,5 cm y 4 a 5 cm de ancho, relación largo/ancho mediana o baja, pubescencia ausente en ambas caras; estípulas caedizas. Flores solitarias, longitud del pedicelo de 2 a 3 cm, 4 ó 5 sépalos. Fruto esférico, rugoso, de color verde, 2 a 3 cm de longitud y 2 a 2,5 cm de ancho, relación largo/ancho de 1 a 1,2, ápice en forma de ombligo, base cóncava o con cuello, inserción del pedúnculo de forma vertical, diámetro del cáliz con relación al fruto maduro < 25% (figura 2).

Distribución geográfica: reportada en los estados Amazonas, Anzoátegui, Apure, Bolívar, Cojedes, Delta Amacuro y Guárico.

Ejemplares de herbario examinados. Colectores, N° de colección y herbario: J. Steyermark y G. Bunting: 102470, VEN; A. Castillo, R. Duno y R. Smith: 3131 MY; G. Davidse y A. González: 16205, MY; G. Davidse y A. González: 14420, MY; R. López y O. Gutiérrez: 666, MY; B. Trujillo: 2161, MY.



Figura 2. *Psidium acutangulum* DC.

***Psidium persoonii* McVaugh**

Árbol de aproximadamente 6,5 m de altura, hojas erectas, con pares de nervadura entre 10 y 16, opuestas decusadas, de forma elíptica, de 9,5 a 10,5 cm de largo y 3,5 a 4,5 cm de ancho, relación largo/ancho de la hoja media, pubescencia ausente en ambas caras del limbo foliar; estípulas caedizas. Flor solitaria; pedicelo de 1,5 a 3 cm de longitud; 4 sépalos con una relación largo/ancho de 0,5 a 1,5. Fruto esférico de textura rugosa, de color verde, de 2 a 3 cm de largo y 1,5 a 2 cm de ancho, relación largo/ancho de 0,75 a 1,5; ápice en forma de ombligo; base en forma convexa; inserción del pedúnculo de forma vertical; el diámetro del cáliz con relación al fruto maduro es menor a 25% (figura 3).

Distribución geográfica: Amazonas y Bolívar.

Ejemplares examinados: C. Knab-Vispo: 967 y 760, MY; J. Rosales y G. Rodríguez: 2006, VEN; E. Zent: 1201, VEN; J. Rosales, C. Knab y G. Rodríguez: 1404, VEN; A. Castillo: 3749, MY; J. Rosales, C. Knab y G. Rodríguez: 1404, GUYN (**Reclasificadas a *P. acutangulum***).

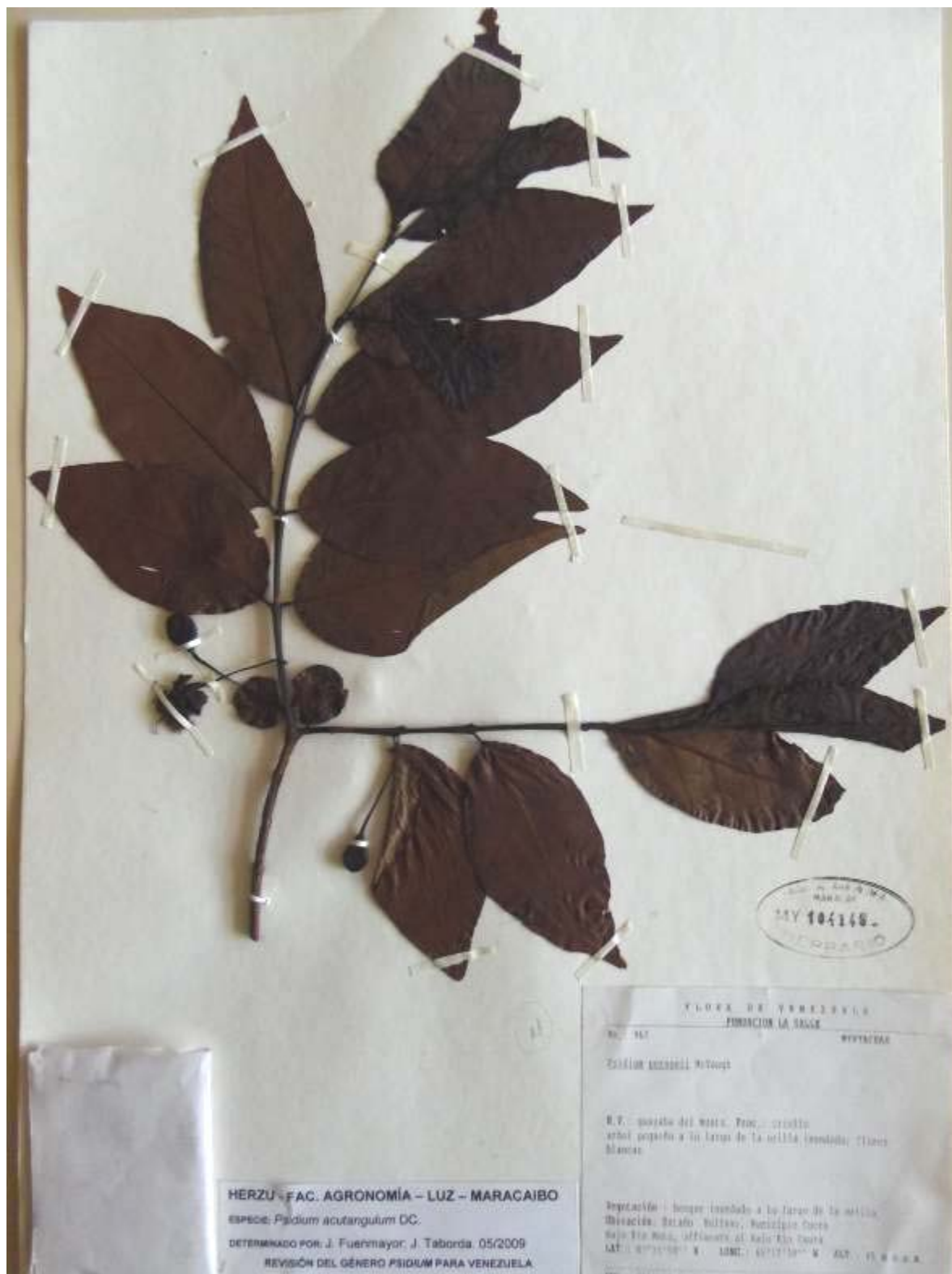


Figura 3. *Psidium persoonii* McVaugh.

***Psidium densicomum* DC.**

Árbol de 4 m de alto, hojas erectas, pares de nervaduras media o alta, opuestas decusadas, lanceoladas, 12,5 a 14 cm de longitud y 2,5 a 4,5 cm de ancho, relación largo/ancho mediana o baja, glabras en ambas caras; estípulas caedizas. Flores solitarias; longitud del pedicelo de 3 cm; pentámeras, pétalos de 1,5 a 2 cm de longitud y 0,5 a 2,5 cm de ancho; 5 sépalos (figura 4).

Distribución geográfica: Anzoátegui, Apure y Bolívar.

Ejemplares examinados: C. Knab-Vispo: 1022, VEN; R. Duno, A. Castillo y R. Smith: 200, VEN; W. Díaz, O. Acosta, M. Blanco y J. Pérez: 6762, VEN; E. Rutkis y K. Udris: 272, MY (**Reclasificadas a *P. acutangulum***).

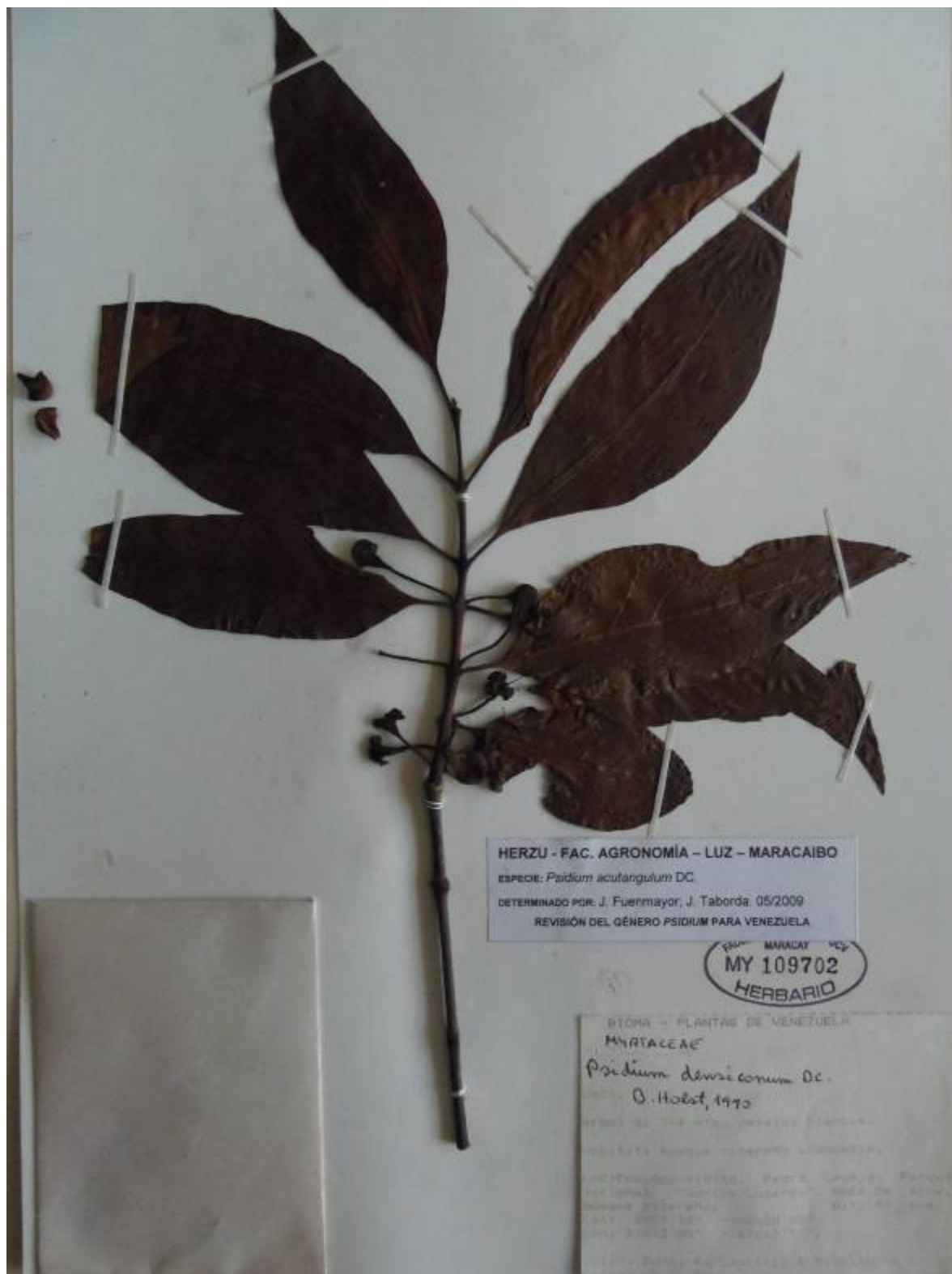


Figura 4. *Psidium densicomum* DC.

***Psidium guajava* L.**

Árbol de 3,5 m de alto, hojas erectas, número de pares nervaduras mayor o igual a 16, opuestas decusadas, elípticas u ovales, de 5 a 11 cm de largo y 3,8 a 4,5 cm de ancho, relación largo-ancho de la hoja media, pubescencia media en el haz y densa en el envés; estípulas caedizas. Flores solitarias, cimas bíparas o ambas; pedicelo de 1 a 2 cm de longitud; pentámeras con pétalos de 0,5 a 1 cm de longitud y 0,5 de ancho, relación largo/ancho de 1,5; sépalos 4. Fruto esférico o piriforme de textura rugosa, color verde, de 2 a 6 cm de longitud y de 3 a 8 cm de diámetro, relación largo/ancho de 0,6 a 0,75; ápice en forma de ombligo; base cóncava o con cuello; inserción del pedúnculo vertical o central; diámetro del cáliz con relación al fruto maduro < 25%; semilla de forma ovoide, color crema, de 0,3 cm de largo y 0,2 cm de ancho, textura lisa (figura 5).

Distribución geográfica: Amazonas, Apure, Aragua, Bolívar, Carabobo, Falcón, Lara, Mérida, Miranda, Táchira, Trujillo y Zulia.

Ejemplares examinados: B. Trujillo: 2223, MY; P. Montaldo: 3735, MY; D. Herrera y A. Puente: 874, MER; G. Ferrari: 1531, MY; O. Camacaro: 12, MER; A. Quintero, M. Ricardi y R. Carroz: 285, MER; G. Raets: 202, MER; J. Serrano: 3, 4, MER; D. Herrera y A. Puente: 759, MER; J. Guevara, B. Russo y A. León: 598, MER; B. Mora: 16, MER; J. Sternermark y V. Carreño: 107683, VEN; F. Deslacio y A. González: 12235, VEN; E. Little: 15299, VEN.



Figura 5. *Psidium guajava* L.
Ejemplar para fotografía: HERZU-3391

***Psidium guineense* Sw.**

Árbol de 1,5 a 4 m de alto, hojas erectas, con pares de nervaduras de media o baja, opuestas decusadas, elípticas u ovales, 7 a 12 cm de longitud y 3,5 a 6 cm de ancho, relación largo/ancho media, pubescencia media o densa en el envés y esparcida en el haz; estípulas persistentes. Flores solitarias o cimas bíparas; pedicelo de 0,9 a 2,15 cm de longitud; de 4 ó 5 pétalos, de 1 a 1,4 cm de longitud y 0,5 a 0,7 cm; 5 sépalos de 1,5 a 2,20 cm de longitud y 1,5 cm de ancho, con una relación largo/ancho de 1,5. Fruto esférico o elipsoide, textura rugosa, de color verde, de 1 a 2,5 cm de longitud y 1 a 2,5 cm de ancho, relación largo/ancho cercana a 1; ápice en forma de ombligo y base predominantemente cóncava; inserción del pedúnculo en forma vertical; diámetro del cáliz con relación al fruto maduro >25 <50% (figura 6).

Distribución geográfica: Amazonas, Apure, Aragua, Barinas, Bolívar, Cojedes, Delta Amacuro, Distrito Federal, Falcón, Guárico, Mérida, Miranda, Monagas, Portuguesa, Táchira, Yaracuy y Zulia.

Ejemplares examinados: O. Huber y C. Alarcón cols: 6604, 6555 MY; G. Ferrari: 1529, MY; B. Trujillo: 14341, 5673, 5991, 1046, 2249, 3934, 4326, 13128, 3934, MY; N. Ramirez: 2144, 2166, MY; M. Ramia y B. Trujillo: 2735, MY; Velasco: 83, 132, MY; B. Trujillo, M. Ponce, D. Marín y R. Parra: 16884 MY; Ljjasz: 228, MY; Velasco y Ramia: 445, MY; M. Ramia: 1159, MY; M. Ramia y Doreste: 604, MY; P. Montaldo: 3168, MY; A. Ramos: 89, MY; Pérez de Layrisse: 1, MER; Standem: 121, NY; L. Trocel: 2, 4, 5, 6, 7, MY; Z. Jiménez, B. Márquez y L. Villarreal: 434, MER; L. Ruíz Terán: 1586, 501, MER; B. Trujillo y M. Ponce: 18779, MY; E. Little: 15299, MER; Bernardi: 296, MER; B. Trujillo, L. Cárdenas, J. Monsalve y G. Bonilla: 24395, MY; A. Alfonzo: 0010, MY; V. Badillo: 2136, 3796, MY; C. E. Benítez: 565, MY; L. Cárdenas: 1956, 2792, 1634, MY; F. Deslacio y R. Liesner: 6932, MY; G. Davidse: 4169, VEN; R. Ortíz y M. Ramia: 2732, VEN; G. Bunting: 5531, 5435, VEN; L. Aristeguieta: 14632, VEN; J. Bono:

4886, VEN; B. Milano, G. Vale, J. Raggi y M. Ponare: 1536, VEN; M. Fucci: 7133, VEN; J. Cooper: 950, VEN; H. Van Der Werff y R. Ortíz: 5599, VEN; R. Pursell: 8615: VEN; C. Benítez, F. Rojas y E. Melqueiro: 3500, MY; W. Meier, C. Bohn y O. Kunert: 5262, VEN.



Figura 6. *Psidium guineense* Sw.
Ejemplar para fotografía: HERZU-3356

***Psidium maribense* DC.**

Árbol de aproximadamente 2 ó 3 m de altura, hojas erectas, con pares de nervaduras entre 10 y 16 pares, opuestas, de forma oval o elípticas, de 3 a 5 cm de longitud y 1 a 2 cm de ancho, relación largo/ancho media o alta, pubescencia esparcida en ambas caras; estípulas caedizas. Flores solitarias; pedicelo de 0,5 a 1,5 cm; pétalos 8, de 1, 5 cm de largo y 0,8 a 1,2 cm de ancho; 4 sépalos. Fruto esférico, de textura rugosa; 1 a 2 cm de largo y 0,9 a 2,5 cm de ancho, relación de 0,8 a 1,1; ápice en forma de ombligo y base cóncava e inserción del pedúnculo vertical; diámetro del cáliz con relación al fruto maduro < a 25% (figura 7).

Distribución geográfica: Anzoátegui, Apure, Aragua, Barinas, Bolívar, Delta Amacuro y Guárico.

Ejemplares examinados: M. Ponce y B. Trujillo: 472, MY; Tamayo: 4550, MY; B. Trujillo: 3990, 11686, MY; M. Ponce y D. Marín: 725, MY; R. Gómez y M. Bevilacqua: 329, MY; G. Davidse y A. González: 14709, 12862, VEN y 12862, MER; Tamayo, : 4550, MY; L. de Guevara: 2251, 2261, MY; Sin colector: 73, MY; N. Ramírez: 709, VEN; R. Gómez: 329, MY.



Figura 7. *Psidium maribense* DC.

***Psidium salutare* (Kunth) O. Berg.**

Árbol de 1 a 1,5 m de alto, hojas erectas, levemente curvas, con pares de nervaduras de media a baja, opuestas decusadas, de forma elíptica, de 4 a 5 cm de largo y de 1,5 a 2,5 cm de ancho, relación largo/ancho de la hoja media, pubescencia esparcida en ambas caras de la hoja; estípulas caedizas; flores solitarias o cima bípara, acompañadas por brácteas; pedicelo de 1 a 1,5 cm de longitud; 5 pétalos de 0,61 cm de largo y 0,38 cm de ancho y una relación largo/ancho de 1,6; 5 sépalos. Frutos de forma esférica, verde-amarillento, hasta 1,5 cm de diámetro (figura 8).

Distribución geográfica: Amazonas, Cojedes y Guárico.

Ejemplares examinados: Sin colector: 2182, 2183, 2184, MY; L. Aristeguieta y F. Deslacio: 14552, VEN; T. Plowman y F. Guánchez: 13756, VEN.



Figura 8. *Psidium salutare* (Kunth) O. Berg.

***Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.**

Árbol entre 1,5 a 6 m de alto, hojas erectas, con menos de 10 pares de nervaduras, opuestas decusadas, de forma elíptica u oblonga, con una longitud de 2,8 a 5 cm y 1,2 a 1,4 cm de ancho, relación largo/ancho media o alta, pubescencia ausente en ambas caras; estípulas persistentes. Flores solitarias; con pedicelo de 0,8 a 1,3 cm de longitud; 4 pétalos de 0,3 a 0,4 cm de largo y 1,1 cm de ancho; 5 sépalos. Frutos de forma esférica, textura rugosa, de color amarillo; de 0,8 a 1,3 cm de largo y de 0,8 a 0,9 cm de ancho, relación largo/ancho de 1 a 1,4; forma del ápice cóncava y la forma de la base con cuello; inserción del pedúnculo de forma oblicua; diámetro del cáliz en relación al fruto mayor a 50% (figura 9).

Distribución geográfica: Aragua, Bolívar, Distrito Federal, Lara, Miranda y Sucre.

Ejemplares examinados: B. Trujillo: 5645, 5566, 6755, 3437, MY; F. Fernández-Yépez: 1106, MY; J. Serrano: 2, MER; N. Ramírez y M. López: 3295, 3475, VEN; J. Steyermark, B. Manara y G. Morillo: 108734, VEN; J. Steyermark: 91804, 94291, VEN.



Figura 9. *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.

***Calycolpus moritzianus* (O. Berg) Burret.**

Árbol de aproximadamente 15 m de alto, hojas erectas, leve o medianamente curvas, con más de 16 pares de nervaduras, opuestas decusadas, elípticas o lanceoladas, longitud de 4,5 a 7,5 cm y 1,5 a 2,5 cm de ancho, relación largo/ancho de la hoja alta, glabras en ambas caras; estípulas persistentes. Flores solitarias, algunas veces cimas bíparas; pedicelo de 2,5 a 3,2 cm de longitud; pentámeras, pétalos de 1,5 cm de longitud y 0,7 cm de ancho; 5 sépalos de 1, 5 cm de largo y 0.7 cm de ancho. Fruto esférico, de textura rugosa; ápice en forma de ombligo; base de forma cóncava; inserción del pedúnculo vertical; diámetro del cáliz con relación al fruto maduro, $\geq 25\% \leq 50\%$ (figura 10).

Distribución geográfica: Lara, Mérida, Táchira y Trujillo.

Ejemplares examinados: E. Little: 15502, 15887, MER; J. Camacho y L. Liscano: 3, MER; J. Fernández: 32, MER; R. Guevara: 40, MER; P. Salcedo y J. Camacho: 159, MER; J. Rondón: 5, MER; M. Ataroff: 153, MER; J. Bautista: 3023, MER; N. Rollet: 981-065, MER; R. Armas y M. Rodríguez: 22, MER; L. Ricardi y P. Salcedo: 5730, MER; L. Berti: 839, MER; A. Quintero y M. Ricardi: 497, MER; Ijjasz-Madriz: 279, VEN; G. Davidse y A. González: 21134, VEN
(Especímenes originalmente identificados como *P. caudatum*).



Figura 10. *Calycolpus moritzianus* (O. Berg) Burret.

CONCLUSIONES

En el análisis morfológico de las especies de *Psidium*, se pudo evidenciar la existencia de características útiles, principalmente de aspecto vegetativo, que permitieron agrupar o separar las especies evaluadas.

Entre los aspectos finales que pudieron constatare, resalta el grado de afinidad morfológica entre las especies estudiadas, siendo notable, el acercamiento morfológico entre *P. acutangulum*, *P. persoonii* y *P. densicomum*, que para efecto de este estudio se analizaron como taxa diferentes y que a través de las similitudes morfológicas determinadas se permitió proponerlas como una misma especie. Este hallazgo, se encuentra parcialmente apoyado en lo expuesto en el nuevo Catálogo de la Flora de Venezuela, donde se menciona que la especie *P. persoonii* es sinónimo de *P. acutangulum*.

También se encontraron variaciones en el grado de afinidad morfológica entre las especies, siendo notable por ejemplo, el acercamiento morfológico entre *P. guajava* y *P. guineense*, donde los caracteres más diferenciales fueron el grado de pubescencia, número de pares de nervaduras y el tipo de inflorescencia.

Calycolpus moritzianus junto a las especies indeterminadas representó el grupo más distante y con diferencias más notables comparadas con las demás especies, lo que comprueba la acertada reclasificación de *Psidium caudatum* dentro del género *Calycolpus*. Considerando los resultados del análisis aplicado las especies indeterminadas pueden constituir taxa diferentes al género *Psidium*, requiriéndose para dilucidar su identidad la incorporación de otras variables que contribuyan a la consecución de este objetivo.

Los caracteres morfológicos que resultaron útiles para la identificación de las especies fueron 11 de tipo vegetativo y 17 reproductivos, cuya información aunada en algunos casos a la proveniente de literatura especializada, permitió la

elaboración de una clave taxonómica y la descripción de las especies *Psidium acutangulum*, *P. densicomun*, *P. persoonii*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus*.

LITERATURA CITADA

Berg, O. 1855-1856. Revisio Myrtacearum Americae. Linnaea 27: 1-472.

Bruce, H., L. Landrum y F. Grifo. 2003. Myrtaceae-Plumbaginaceae. 1-99 pp. En: Flora of the Venezuelan Guayanan. Berry, P., B. Holst, y K. Yatskievych (Eds.). Missouri Botanical Garden Press., Oregon. Vol. 7.

Candolle, A. P. de. 1828. Myrtaceae. En: Prodr. Syst. Nat. Reg. Veg. 3: 201-296.

Gomes, S., N. Somavilla, K. Gomes-Bezerra, S. do Couto, P. De-Carvalho y D. Graciano-Ribeiro. 2009. Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomía e filogenia. Acta Botanica Brasilica. 23: 223-238.

Hokche, O., P. Berry y O. Hubber. 2008. Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. 859 p.

International Union for the Protection of New Varieties of Plants. 1987. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, homogeneity and stability. Guava (*Psidium guajava* L.). Geneva: UPOV. 27 p.

Landrum, L. y W. Sharp. 1989. Seed coat characters of some American Myrtinae (Myrtaceae): *Psidium* y related genera. Systematic Botany 14: 370-376.

Lucas, E., S. Belsham, E. Nic Lughadha, D. Orlovich, C. Sakuragui, M. Chase y P. Wilson. 2005. Phylogenetic patterns in the fleshy-fruited Myrtaceae- preliminary molecular evidence. Plant Systematics and Evolution. 251: 35-51.

Mc Vaugh, R. 1963. Tropical American Myrtaceae, II, Notes on generic concepts and descriptions of previously unrecognized species. Fieldiana 29: 393-532.

Mc Vaugh, R. 1968. The genera of American Myrtaceae- An Interim report. *Taxon*.17: 354-415.

Sánchez-Urdaneta, A.B. y C. B. Peña-Valdivia. 2011. Descriptor morfológico para la caracterización del género *Psidium*. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 28:303-343.

Sánchez-Vindas, E. 1990. Flora de Veracruz. Fascículo 62 (Myrtaceae). Instituto de Ecología, A.C. Xalapa. México y University of California Riverside, California. EEUU. 146 p.

SAS Institute, Inc. 2008. SAS user's guide: Statistics. Versión 9.1.3, SAS Inst., Inc. NC, USA.

CAPÍTULO III

Análisis anatómico de la lámina foliar de especies de
Psidium (MYRTACEAE) presentes en Venezuela

RESUMEN

En las Mirtáceas se han conducido investigaciones considerando características anatómicas con propósitos taxonómicos a nivel de familia, género y especie. Esta investigación se realizó con el objetivo de identificar y comparar rasgos anatómicos de la lámina foliar en las especies: *Psidium guineense*, *P. guajava*, *P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus*, empleando muestras frescas recolectadas en los estados venezolanos Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia, así como muestras herborizadas provenientes de los herbarios VEN, MER, MY y HERZU. Se obtuvieron secciones transversales de la lámina foliar e impresiones de la epidermis, para evaluar 33 variables entre cuantitativas y cualitativas. Los resultados se procesaron mediante análisis de conglomerados y de componentes principales (ACP); a las variables cualitativas se les aplicó un análisis de frecuencia. El análisis de conglomerado, permitió la obtención de los siguientes grupos: 1) *P. guajava*, *P. guineense* y *P. sartorianum*, 2) *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense* y *P. acutangulum* y 3) *P. guajava*, *P. salutare* y *Calycolpus moritzianus*. Según el ACP todas las variables cuantitativas incidieron en la conformación de los mismos, excepto la densidad estomática. Las variables cualitativas que contribuyeron mayormente a la distinción de las especies fueron: la presencia y número de estratos celulares sub-epidérmicos, el grado de diferenciación del parénquima esponjoso, la forma de la nervadura central, la presencia de haces vasculares secundarios y la forma de las células epidérmicas comunes. Estos hallazgos sumados a información proveniente de otros análisis complementará el tratamiento taxonómico realizado para algunas especies del género *Psidium* de Venezuela.

Palabras clave: anatomía foliar, *Psidium*, Venezuela.

Anatomical analysis of leaf layers from *Psidium* species present in Venezuela

ABSTRACT

Anatomical characters for different levels of taxonomic classification, family, genus and species had been used in the Myrtaceae. The present study was conducted to identify and to compare anatomical characters of the leaf layers of *Psidium guineense*, *P. guajava*, *P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus*, using field samples collected from the venezuelan states of Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia, as well as from preserved herbarium samples from VEN, MER, MY and HERZU. Cross leaf sections and epidermal imprints were obtained from the samples, evaluating 33 quantitative and qualitative variables. The results were processed by Cluster Analysis and Principal Component Analysis (PCA), whereas qualitative variables were analyzed using frequency analysis. PCA permitted the obtention of the following groups: 1) *P. guajava*, *P. guineense* y *P. sartorianum*, 2) *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense* y *P. acutangulum* y 3) *P. guajava*, *P. salutare* y *Calycolpus moritzianus*. According to the PCA all quantitative variables influenced in the conformation of the groupings, except for the stomata density. The qualitative variables that influenced in the species distinction were: the presence and number of subepidermal cellular layers, the degree of differentiation of the spongy parenchyma, the shape of the midrib, the presence of secondary vascular bundles and the shape of common epidermal cells. These results along with information obtained from related studies will complement the taxonomic knowledge of several *Psidium* species reported for Venezuela.

Key Words: foliar or leaf anatomy, *Psidium*, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

La familia Myrtaceae incluye aproximadamente 133 géneros y más de 3800 especies (Wilson *et al.*, 2001). Su centro de diversidad está en Australia, sureste asiático y las regiones tropicales y subtropicales del continente Americano, teniendo una pequeña representación en África. Recientemente, la familia se había dividido en dos subfamilias, Myrtoideae donde se encuentran las especies de frutos carnosos, y Leptospermoideae de frutos capsulares. El primer estudio serio que abordaba esta aseveración fue el conducido por Johnson y Briggs (1984) quienes concluyeron a través de un análisis cladístico basado en caracteres anatómicos y morfológicos, que ésta clasificación en subfamilias no fue la más acertada. Entre sus determinaciones indicaron que géneros como *Acmena*, *Syzygium* y relacionados, constituyeron un grupo de frutos carnosos que fue separado de otros géneros usualmente asignados a Myrtoideae; ésta distinción se basó en evidencias provenientes de características anatómicas de la madera y corteza.

En Venezuela existen 19 géneros de Myrtaceae, entre éstos *Psidium*, con 13 especies ampliamente distribuidas en el territorio nacional (Hokche *et al.*, 2008).

Landrum (2003) realizó en el país la caracterización morfológica de nueve de éstas especies (*P. acutangulum*, *P. cinereum*, *P. densicomun*, *P. guajava*, *P. laruotteanum*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *P. striatulum*), determinando su distribución en dieciocho estados del país; dentro de esta gran diversidad se presentaron tipos morfológicos muy semejantes entre sí, generándose con ello confusiones a nivel taxonómico.

Las grandes variaciones en el estimado del número de especies dentro del género *Psidium* es producto de la existencia de complejos de entidades que pueden por sí mismas ser consideradas especies sencillas o grupos de especies. Uno de estos grupos es el complejo *P. salutare*, el cual tiene un rango de

dispersión desde México a Uruguay; incluye especies comúnmente aceptadas como *P. laruotteanum*, *P. salutare*, *P. luridum*, *P. incanum* y *P. pohlianum*. Otro grupo de similar rango (Nor-este de Argentina a Venezuela), es el complejo *P. cinereum* (*P. cinereum* DC, *P. grandifolium* DC, *P. australe* Cambess, *P. missionum* D. Legrand y *P. suffruticosum* O. Berg) (Landrum, 2003).

Fontenelle *et al.* (1994) establecieron que la botánica descriptiva puede aportar información para contribuir a la identificación de especies vegetales; sin embargo, esto no siempre es posible basado en el examen floral, sino que debe complementarse utilizando otras herramientas como la descripción anatómica. Entre los caracteres empleados para estudios de anatomía comparativa, se encuentran estructuras como la cutícula, epidermis, tricomas, tipo y ontogénesis de estomas.

En las Mirtáceas desde hace décadas, se han conducido investigaciones considerando características anatómicas con propósitos taxonómicos a nivel de familia, género y especie. Estudios a nivel de familia fueron realizados por Metcalfe y Chalk (1950) y Hickey y Wolfe (1975), los primeros desde el punto de vista morfoanatómico y los restantes relacionados con la arquitectura foliar. En otras investigaciones diferentes taxones de Myrtaceae fueron examinados en su anatomía foliar (Backes 1971; Keating 1984; Fontenelle *et al.* 1994; Arruda y Fontenelle 1994; Gomes *et al.* 2009), aportando datos importantes para la construcción de filogenias.

Khatijah *et al.* (1992) estudiaron la anatomía de la hoja y pecíolo de 25 especies de *Eugenia* provenientes de la Península Malaya para determinar el potencial de la anatomía vegetativa en la identificación de material sin flores. Por otro lado, herramientas como el microscopio electrónico de barrido, han permitido solventar problemas taxonómicos a través del análisis de la micromorfología de cubiertas de semillas y superficies foliares.

Gomes *et al.* (2009) destacaron la importancia de los caracteres anatómicos para estudios taxonómicos y evolutivos de Myrtaceae y Myrtales; entre las

variables útiles desde el punto de vista taxonómico se encontraron el número de estratos celulares en la epidermis, tipo de tricomas y de estomas, presencia de cavidades secretoras, entre otros; sin embargo, establecieron que pocos representantes de la flora neotropical han sido incluidos en éstos análisis, principalmente los de la tribu Myrteae. Entre los escasos trabajos que han considerado caracteres anatómicos foliares destaca el de McVaugh (1956) quien describió la arquitectura foliar de las especies americanas.

El grosor de la cutícula y el tamaño relativo de los estratos epidérmicos abaxial y adaxial fueron propuestos por Keating (1984) para Myrtaceae. Guantay (2008) cuando estudió la anatomía y arquitectura foliar de *Amormytella güili*, un género de las Mirtáceas predominante en Argentina, propuso como rasgos distintivos entre taxa de esta familia el tipo de mesófilo, forma de las células del parénquima, presencia de idioblastos, tipo de haces vasculares, aspectos asociados a la nervadura media, entre otros.

Por lo anteriormente expuesto, esta investigación se realizó con el objetivo de identificar y comparar rasgos anatómicos de la lámina foliar en especies de *Psidium* presentes en Venezuela, útiles para contribuir al tratamiento taxonómico del género.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el análisis anatómico se emplearon muestras frescas de las especies *P. guineense* y *P. guajava* recolectadas en diversas localidades de los estados Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia, en los cuales presentan una alta distribución (Hoekche *et al.*, 2008); adicionalmente, se integró la especie *Calycolpus moritzianus* como taxa comparativo, anteriormente nominada como *P. caudatum*, por poseer características morfológicas similares a *Psidium* (Hoekche *et al.*, 2008).

También se incluyeron muestras herborizadas correspondientes a las especies *P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. salutare* y *P. sartorianum*, de las colecciones del Herbario Nacional de Venezuela (VEN), Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (MER) y del Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (MY). Es importante mencionar que inicialmente se consideró integrar en el estudio otras especies de *Psidium* reportadas para Venezuela, cuyas muestras se extrajeron de especímenes herborizados, pero debido al deterioro de las mismas, evidenciado durante y después del procesamiento del material, no fue posible su análisis. En el cuadro 1 se presentan las especies estudiadas con información de su procedencia y número de colección para el caso de especímenes herborizados.

Cuadro 1. Ejemplares de *Psidium* y *Calycolpus moritzianus* utilizados en el estudio anatómico foliar.

Especie	Procedencia	Nº de colección en herbario
<i>P. acutangulum</i>	Amazonas, Anzoátegui, Apure, Bolívar, Cojedes	200, , 666, 760, 967, 3749, 3131-MY; 1404, 6762-VEN.
<i>P. guajava</i>	Recolectas frescas en diversas localidades de Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia	3313, 3317, 3318, 3319, 3320, 3321, 3322, 3323, 3324, 3330, 3350, 3354, 3355, 3356, 3357, 3360, 3361, 3362, 3370, 3371, 3387, 3390-HERZU.
<i>P. guineense</i>	Recolectas frescas en diversas localidades de Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia	3027, 3339, 3359, 3364, 3368, 3369, 3383, 3384, 3385, 3386, 3388, 3389-HERZU .
<i>P. maribense</i>	Anzoátegui, Apure, Bolívar, Delta Amacuro, Guárico	329, 14348-MY; 65, 709, 725, 12862-VEN.
<i>P. salutare</i>	Amazonas, Cojedes, Guárico	2182, 2183, 2184-MY; 13756, 14552-VEN.
<i>P. sartorianum</i>	Aragua, Bolívar, Lara, Miranda Sucre	6755-MY; 2-MER; 3295, 3475, 94291, 108734-VEN.
<i>C. moritzianus</i>	Recolectas frescas en diversas localidades de Mérida y Táchira	3315, 3316, 3325, 3326, 3327, 3328, 3332, 3333, 3334, 3335, 3343, 3345, 3346, 3347, 3348, 3349, 3351, 3353, 3358- HERZU

Herbario Nacional de Venezuela (VEN), Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (MER), Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (MY) y Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia "José Omar Zambrano" (HERZU).

Las salidas de campo para la toma de material fresco se planificaron revisando los registros de los herbarios antes mencionados e información bibliográfica. En la recolecta del material vegetal se extrajeron del tercio medio de la copa de la planta cinco hojas maduras provenientes de una o de cuatro plantas de las especies estudiadas, dependiendo de su disponibilidad en el sitio de recolección; se cuidó que las plantas presentaran buenas condiciones fitosanitarias; seguidamente se fijaron en una solución de formaldehído, ácido acético glacial y etanol (FAA) (90:5:5) para su posterior procesamiento. En las plantas herborizadas el número de muestras varió, seleccionando como mínimo cinco ejemplares, dependiendo de la disponibilidad de exsicatas en buen estado. De éstas se tomaron igualmente hojas maduras y completas, sometiéndolas previamente a un ablandamiento mediante hidratación en agua a temperatura de ebullición por 1 ó 2 min.

Las muestras se procesaron en los laboratorios de Botánica Morfológica y Botánica Sistemática de la Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia.

En la obtención de secciones transversales de hojas, se aplicó la siguiente metodología para la elaboración de láminas semi-permanentes: 1. Deshidratación en alcohol butílico terciario (TBA) en concentraciones ascendentes de 70% a 100%, con cambios a intervalos de una hora; 2. Inclusión en parafina; 3. Obtención de cortes transversales de 12 μm , practicados en la parte central de la lámina con un micrótopo de rotación Marca Spencer, modelo 820; 4. Coloración con azul de toluidina al 0,5% en solución alcohólica al 96%; 5. Las secciones se desparafinaron e hidrataron con xilol y alcohol, y se colocaron en láminas portaobjetos utilizando como medio de montaje bálsamo de Canadá.

Para evaluar las características de la epidermis foliar, tanto en las muestras de colecta reciente como en las herborizadas, se aplicó la técnica de impresión en silicón líquido, ya que por otros medios fue difícil la extracción de éste tejido. El procedimiento según metodología de Sandoval (2005) fue el siguiente: 1. Se tomó una sección limpia de hoja de aproximadamente 2 cm^2 ; 2. Se vertió sobre ésta silicón mezclado previamente con un endurecedor, dejándolo secar por 10 min; 3.

Con ayuda de pinzas de punta fina se retiró la capa de silicón endurecida y se volteó de manera que quedara expuesta la impresión de la epidermis en el portaobjetos, sobre la cual se aplicó una capa fina de esmalte transparente para uñas y se dejó secar; 4. Con la ayuda de pinzas se retiró la capa de esmalte; 5. Se colocó cuidadosamente esta capa que contenía la impresión de la epidermis sobre un nuevo portaobjetos para su observación al microscopio.

De todas las secciones histológicas se tomaron microfotografías con una cámara Color CCD incorporada a un microscopio LABOMED CXR3 y se digitalizaron las imágenes con el software Image Pro-Plus (1999) para la evaluación de las variables cualitativas y cuantitativas.

Adicionalmente, para mostrar detalles del tejido epidérmico, tales como tipos de estomas y tricomas, algunas muestras se fotografiaron con un microscopio electrónico de barrido Marca FEI modelo PHENOM. Previamente, éstas fueron impregnadas de un baño de oro con un recubridor Sputer marca SPI, modelo 11-430, por un tiempo de exposición de 120 s a 9 mA. Las muestras herborizadas requirieron una deshidratación con acetona.

Para el estudio anatómico se consideraron los caracteres de la lámina foliar analizadas en las investigaciones de Fontenelle (1994), Tantawy (2004), Torres *et al.* (2004), Guantay (2008) y Gómes *et al.* (2009), realizadas en géneros de Myrtaceae.

En la evaluación de las variables cuantitativas se empleó el programa Image Tool® (Wilcox *et al.*, 2002), calibrando previamente con el objetivo del microscopio con el que se tomó la fotografía de la sección histológica. Estas fueron aquellas que midieron dimensiones de estructuras (pared celular de la célula epidérmica, largo y ancho de estomas, longitud de tricomas y diámetro de las cavidades secretoras), espesor de estratos (cutícula, parénquima empalizada y parénquima esponjoso) y número de células (estomas y cavidades secretoras). Para la medición de éstas últimas se contabilizó el número de células presentes en un áreas de $21571 \mu\text{m}^2$, repitiendo el procedimiento cinco veces a través de la

sección histológica proyectada en el monitor de la computadora, a fin de obtener un promedio entre las mediciones (metodología modificada de Peña Valdivia *et al.*, 2010). El número de estomas se contó en la impresión de la epidermis abaxial y el número de glándulas secretoras en la sección transversal de la lámina foliar.

Esta información se recolectó en una matriz de datos elaborada en Microsoft Windows Excel (2007), dicha matriz incluía los valores de los diversos caracteres anatómicos y sus diversos estados. Se midieron inicialmente un total de 45 variables entre cualitativas y cuantitativas; no obstante, debido a la pobre calidad de muestras en el caso de especímenes herborizados, y en algunos casos a la falta de suficientes repeticiones en las recolectas de campo, se generaron muchos datos perdidos, por lo cual algunas fueron eliminadas; finalmente se analizaron 33 variables las cuales se presentan en el cuadro 2.

Cuadro 2. Variables cuantitativas y cualitativas consideradas para el análisis anatómico

Variables cuantitativas	Variables cualitativas
Grosor cutícula foliar (μm)	Tipo de epidermis (Simple, Múltiple)
Grosor de la pared de las células epidérmicas (μm)	Forma de la célula epidérmica (Rectangulares, ovales, otra forma)
Nº de cavidades secretoras $\cdot 21571 \mu\text{m}^{-2}$	Tamaño relativo de los estratos epidérmicos (Adaxial<abaxial, adaxial=abaxial, adaxial>abaxial)
Diámetro de las glándulas secretoras (μm)	Estratos celulares sub-epidérmicos (Presente, ausente)
Número de estomas $\cdot 21571 \mu\text{m}^{-2}$	Número de estratos sub-epidérmicos (0 estratos, 1 estrato, 2 estratos, 3 estratos)
Longitud del estoma (μm)	
Ancho del estoma (μm)	
Longitud del tricoma (μm)	Forma de las glándulas secretoras (Isodiamétrica, redondeada, otra forma)
Grosor del parénquima empalizada (μm)	Forma de las células adyacentes a las glándulas secretoras (Paredes anticlinales rectas, paredes anticlinales sinuosas, paredes anticlinales en zig-zag, otra)
Grosor del parénquima esponjoso (μm)	Distribución de las cavidades secretoras (Superficie adaxial, superficie abaxial, ambas superficies)
Grosor del mesófilo (μm)	Hoja según presencia de estomas (Epiestomática, hipoestomática, anfiestomática, glabrescente)
	Tipo de estoma (Paracítico, Anomocítico, Anomoparacítico)
	Distribución de estomas (Uniforme, agrupados)
	Tipo de tricoma (Unicelular, ramificado,

otro)

Tipo de mesófilo (Isolateral, bifacial)

Forma de las células del parénquima empalizada (Alargada, elíptica, otra)

Diferenciación del parénquima esponjoso (No diferenciado, poco diferenciado, , diferenciado)

Presencia de idioblastos (Presentes, ausentes)

Forma de la nervadura central (Biconvexa, plano-convexa, cóncavo-convexa, otra)

Tipo de haz vascular central (Bicolateral, colateral)

Forma del haz vascular central (En arco, semi-arco, casi plano)

Presencia de haces vasculares secundarios (Presentes, ausentes)

Forma de las células parenquimáticas en el haz central (Isodiamétricas, irregulares)

Presencia de fibras pericíclicas (Presentes, ausentes)

Los análisis estadísticos se realizaron mediante técnicas multivariadas (análisis de conglomerados a través del método de la varianza mínima de Ward, procedimiento CLUSTER del SAS, y análisis de componentes principales: ACP, PRINCOMP del SAS, versión 9.1.3, 2005). El primer procedimiento permitió obtener los grupos conformados por las especies de *Psidium* según sus similitudes con base a los caracteres anatómicos cuantitativos, y con el segundo, se determinaron las variables que mayor peso ejercieron sobre dicho arreglo. A las variables cualitativas se les aplicó un análisis de frecuencia mediante el procedimiento Proc Freq (SAS), con la finalidad de realizar la descripción de las especies.

RESULTADOS

Análisis Cluster

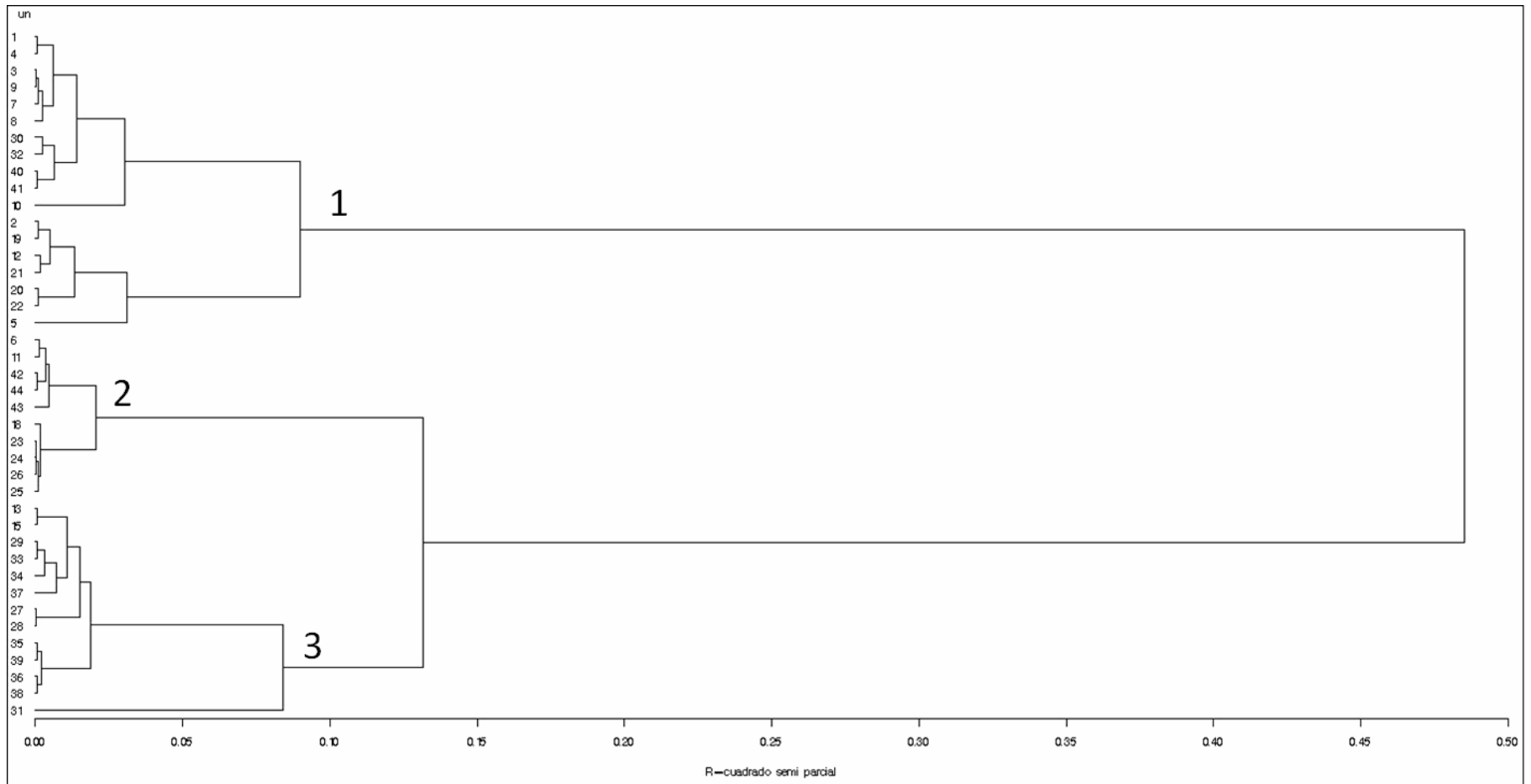
En el análisis de conglomerado mostrado en la figura 1, se observan tres grupos de *Psidium* conformados por las siguientes especies:

Grupo 1: *P. guajava*, *P. guineense* y *P. sartorianum*.

Grupo 2: *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense* y *P. acutangulum*.

Grupo 3: *P. guajava*, *P. salutare* y *Calycolpus moritzianus*.

Es importante resaltar que aún cuando en este arreglo *P. guajava* estuvo presente en los tres grupos y *P. guineense* en los grupos 1 y 2, el 53,33% de los individuos de *P. guajava* se reunió en el grupo 3 y el 83,33% de los de *P. guineense* en el grupo 1.



En la gráfica los individuos con los números: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 corresponden a *P. guineense*; *P. guajava*: 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 y 44; *P. acutangulum*: 23, 24, 25 y 26; *P. maribense*: 18; *P. salutare*: 27, 28 y 29; *P. sartorianum*: 19, 20, 21 y 22; *Calycolpus moritzianus*: 13 y 15.

Figura 1. Dendrograma resultante del análisis de conglomerado (Cluster) aplicado a especies de *Psidium* considerando datos anatómicos

Análisis de Componentes Principales

El análisis de componentes principales seleccionó como determinantes en la conformación de los grupos de especies, a la mayoría de las variables cuantitativas consideradas (Cuadro 2), excepto el número de estomas; éstas fueron: grosor de la cutícula foliar, grosor de la pared de la célula epidérmica, ancho de estoma, longitud de estomas, longitud de tricomas, grosor del parénquima empalizada, grosor del parénquima esponjoso, grosor del mesófilo, número de glándulas secretoras y el diámetro de las glándulas secretoras. En la figura 2, al igual que en el análisis cluster, se evidencian los tres grupos de especies considerando los tres primeros componentes.

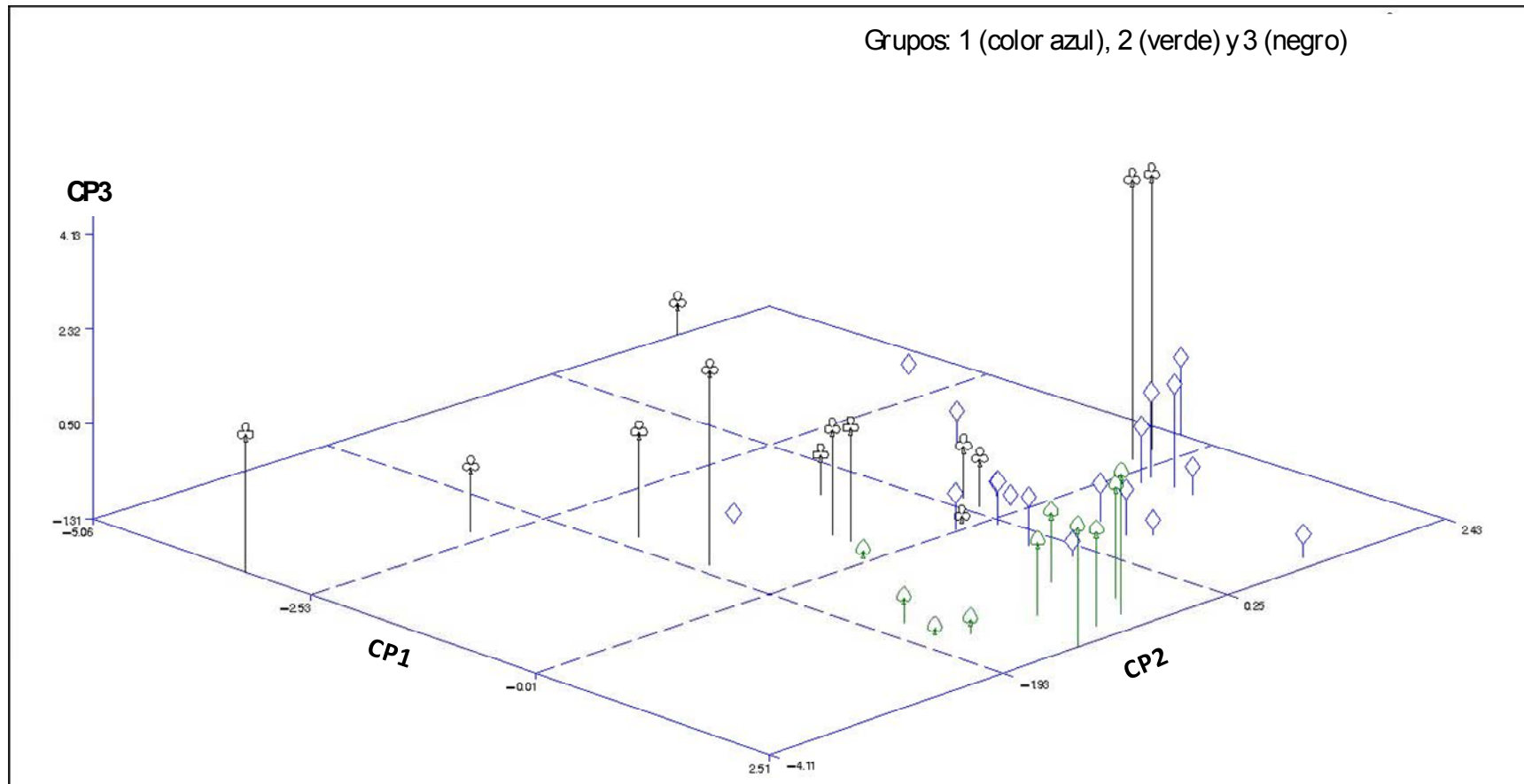


Figura 2. Ordenación de los componentes principales generado por las características anatómicas en especies de *Psidium*.

En el cuadro 3 se observa que la sumatoria de los tres primeros componentes explica el 62,97% de la variación observada con relación a las características anatómicas en especies de *Psidium*. El primer componente (CP1) explicó el 26,75% de la variabilidad, el segundo (CP2) 19,91% y el tercero (CP3) 16,31%.

Cuadro 3. Valores propios y proporción de la varianza para los diez componentes principales con relación a las características anatómicas determinadas en especies de *Psidium*.

Componente Principal	Valores propios	Proporción de la varianza	
		Propia	Acumulada
CP1	2.67494243	0.2675	0.2675
CP2	1.99109103	0.1991	0.4666
CP3	1.63089358	0.1631	0.6297
CP4	1.04158271	0.1042	0.7339
CP5	0.84849494	0.0848	0.8187
CP6	0.65950113	0.0660	0.8847
CP7	0.56805489	0.0568	0.9415
CP8	0.39313129	0.0393	0.9808
CP9	0.17393930	0.0174	0.9982
CP10	0.01836870	0.0018	1.0000

Las características que más aportaron a la variabilidad de los tres primeros componentes fueron: en CP1 el grosor del parénquima en empalizada, del parénquima esponjoso y del mesófilo; en CP2 el grosor de la pared de las células epidérmicas, el diámetro de las glándulas secretoras, la longitud y ancho de

estoma, y longitud de tricomas; en CP3 el grosor de la cutícula foliar, el número y diámetro de glándulas secretoras y longitud de tricomas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Vectores propios para los tres primeros componentes principales (CP) con relación a las características anatómicas determinadas en especies de *Psidium*.

Variables	CP1	CP2	CP3
Grosor de la cutícula foliar	-0,006390	0,209961	0,646178
Grosor de la pared de la célula epidérmica	0,258414	0,450145	0,270531
Número de glándulas secretoras	0,155141	0,011544	0,361045
Diámetro de las glándulas secretoras	0,097341	0,356823	0,483779
Longitud de estoma	0,043079	0,389962	0,027619
Ancho de estoma	0,274493	0,417687	0,136127
Longitud de tricoma	0,135488	0,379340	0,311085
Grosor del parénquima empalizada	0,489876	0,099840	0,155904
Grosor parénquima esponjoso	0,499392	0,284454	0,067063
Grosor del mesófilo	0,560987	0,254001	-0,000885

Los números resaltados con negrillas corresponden a los valores más altos

En el cuadro cinco se presentan los promedios de los caracteres seleccionados a través del análisis de componentes principales por grupos de especies.

Cuadro 5. Promedio de los caracteres anatómicos por grupos de especies de *Psidium*

Variable/Grupo	Grupo 1: <i>P. guajava</i> , <i>P. guineense</i> y <i>P. sartorianum</i>	Grupo 2: <i>P. guajava</i> , <i>P. guineense</i> , <i>P. maribense</i> y <i>P. acutangulum</i>	Grupo 3: <i>P. guajava</i> , <i>P. salutare</i> y <i>Calycolpus moritzianus</i>
Grosor de la cutícula foliar (μm)	2,02	1,92	3,42
Grosor de la pared de la célula epidérmica (μm)	1,42	1,57	2,52
Longitud de estoma (μm)	17,12	18,11	19,07
Ancho de estoma (μm)	14,84	14,81	23,82
Longitud de tricoma (μm)	257,08	135,03	122,53
Grosor del parénquima empalizada (μm)	53,09	29,45	59,47
Grosor del parénquima esponjoso (μm)	65,55	39,69	78,61
Grosor del mesófilo (μm)	118,56	64,23	138,07
Diámetro de la glándula secretora (μm)	56,49	60,94	46,59
Número de glándulas secretoras (Nº de cavidades $\cdot 21571 \mu\text{m}^{-2}$)	0,47	0,49	0,51

En el siguiente cuadro se presentan los resultados del análisis de frecuencia aplicado a las variables cualitativas:

Cuadro 6. Proporción obtenida para cada estado de los caracteres anatómicos evaluados en especies de *Psidium*.

Variable/Grupo	Grupo 1: <i>P. guajava</i> , <i>P. guineense</i> y <i>P. sartorianum</i>	Grupo 2: <i>P. guajava</i> , <i>P. guineense</i> , <i>P. maribense</i> y <i>P. acutangulum</i>	Grupo 3: <i>P. guajava</i> , <i>P. salutare</i> y <i>Calycolpus moritzianus</i>
Tipo de epidermis	Simple=100%	Simple=100%	Simple=100%
	Múltiple=0%	Múltiple=0%	Múltiple=0%
Forma de la célula epidérmica	Rectangulares=5,56 %	Rectangulares=20%	Rectangulares=15,38%
	Ovales=94,44 %	Ovales=80%	Ovales=84,62%
	Otra forma=0%	Otra forma=0%	Otra forma=0%
Tamaño relativo de los estratos epidérmicos	Adaxial<abaxial=0%	Adaxial<abaxial=0%	Adaxial<abaxial=0%
	Adaxial=abaxial=5,56%	Adaxial=abaxial=30%	Adaxial=abaxial=0%
	Adaxial>abaxial=94,44 %	Adaxial>abaxial=70%	Adaxial>abaxial=100%
Estratos celulares sub-epidérmicos	Presente=100 %	Presente=100%	Presente=84,62%
	Ausente=0%	Ausente=0%	Ausente=15,38%
Número de estratos sub-epidérmicos	0 estratos=0%	0 estratos=0%	0 estratos=15,38%
	1 estrato= 22,22%	1 estrato= 50%	1 estrato= 23,08%
	2 estratos=66,67%	2 estratos=40%	2 estratos=30,77%
	3 estratos= 11,11%	3 estratos=10%	3 estratos=30,77%
Forma de las glándulas secretoras	Isodiamétrica= 0%	Isodiamétrica=0%	Isodiamétrica=0%
	Redondeada= 100%	Redondeada=100%	Redondeada=100%
	Otra forma= 0%	Otra forma=0%	Otra forma=0%

Distribución de las cavidades secretoras	Superficie adaxial= 0% Superficie abaxial=0% Ambas superficies= 100%	Superficie adaxial= 0% Superficie abaxial=0% Ambas superficies= 100%	Superficie adaxial= 0% Superficie abaxial=0% Ambas superficies= 100%
Hoja según presencia de estomas	Epiestomática=0% Hipoestomática=77,78% Anfiestomática=22,22% Glabrescente=0%	Epiestomática=0% Hipoestomática=90% Anfiestomática=10% Glabrescente=0%	Epiestomática=0% Hipoestomática=100% Anfiestomática=0% Glabrescente=0%
Tipo de estoma	Paracítico=100% Anomocítico=0% Anomaparacítico=0%	Paracítico=100% Anomocítico=0% Anomaparacítico=0%	Paracítico=100% Anomocítico=0% Anomaparacítico=0%
Distribución de estomas	Uniforme=100% Agrupados=0%	Uniforme=100% Agrupados=0%	Uniforme=100% Agrupados=0%
Tipo de tricoma	Unicelular=100% Ramificado=0% Otro=0%	Unicelular=100% Ramificado=0% Otro=0%	Unicelular=100% Ramificado=0% Otro=0%
Tipo de mesófilo	Isolateral=0% Bifacial=100%	Isolateral=0% Bifacial=100%	Isolateral=0% Bifacial=100%
Forma de las células del parénquima empalizada	Alargada=66,67% Elíptica=33,33% Otra=0%	Alargada=70% Elíptica=30% Otra=0%	Alargada=61,54% Elíptica=38,46% Otra=0%
Diferenciación del parénquima esponjoso	No diferenciado=0% Poco diferenciado=33,33%	No diferenciado=0% Poco diferenciado=70%	No diferenciado=0% Poco diferenciado=38,46%

	Diferenciado=66,67%	Diferenciado=30%	Diferenciado=61,54%
Presencia de idioblastos	Presentes=100%	Presentes=90%	Presentes=100%
	Ausentes=0%	Ausentes=10%	Ausentes=0%
Forma de la nervadura central	Biconvexa=11,11%	Biconvexa=10%	Biconvexa=23,08%
	Plano-convexa=72,22%	Plano-convexa=80%	Plano-convexa=23,08%
	Cóncavo-convexa=16,67%	Cóncavo-convexa=10%	Cóncavo-convexa=38,46%
	Otra=0%	Otra=0%	Otra=15,38%
Tipo de haz vascular central	Bicolateral=100%	Bicolateral=100%	Bicolateral=100%
	Colateral=0%	Colateral=0%	Colateral=0%
Forma del haz vascular central	En arco=22,22%	En arco=60%	En arco=69,23%
	Semi-arco=55,56%	Semi-arco=40%	Semi-arco=7,69%
	Casi plano=22,22%	Casi plano=0%	Casi plano=23,08%
Presencia de haces vasculares secundarios	Presentes=5,56%	Presentes=10%	Presentes=15,38%
	Ausentes=94,44%	Ausentes=90%	Ausentes=84,62%
Forma de las células parenquimáticas en el haz central	Isodiamétricas=100%	Isodiamétricas=100%	Isodiamétricas=100%
	Irregulares=0%	Irregulares=0%	Irregulares=0%
Presencia de fibras pericíclicas	Presentes=100%	Presentes=100%	Presentes=100%
	Ausentes=0%	Ausentes=0%	Ausentes=0%

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados de esta investigación, el menor valor promedio de grosor de la cutícula lo presentó el grupo dos integrado por *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense* y *P. acutangulum* (1,92 μm), mientras que el mayor lo presentó el grupo tres en donde se encuentran *P. guajava*, *P. salutare* y *Calycolpus moritzianus* (3,42 μm). Con relación al grosor de la pared de la célula epidérmica, el mayor (2,52 μm) y menor valor (1,42 μm) lo obtuvieron los grupos uno y tres, respectivamente (Cuadro 5). Es importante recordar que *P. guajava* predominó en el grupo tres, pues como ya se comentó en el mismo se integraron el mayor número de individuos de esta especie.

Diversos trabajos conducidos en Myrtaceae han considerado el análisis de la epidermis y de la cutícula foliar para separar a nivel de género y especie (Ronse *et al.*, 1996). Una clasificación de la cutícula en fina, media o espesa, lisa u ornamentada fue utilizada en un estudio sobre Myrtales por Keating (1984). La deposición de cutícula en mayor o menor grado se ha asociado a variaciones en las condiciones hídricas (Fahn, 1990). El espesor de esta capa cerosa, aunado a su composición química contribuye a repeler el agua, reduciendo la lixiviación y la transpiración (Martin y Juniper, 1970). Esta última función es de suma importancia en plantas que crecen en ambientes con poca disponibilidad de agua, como se pudo constatar en los sitios de recolecta de las especies *P. guajava* y *C. moritzianus*, explicando por lo tanto la presencia de un mayor espesor de cutícula en el grupo donde se integraron. Por el contrario, *P. acutangulum* y *P. maribense* son especies que predominan en lugares de alta humedad, lo cual interpreta de igual modo el resultado obtenido.

Las dimensiones de los estomas presentaron una leve variación entre las especies estudiadas; la mayor longitud y anchura la presentó el grupo tres (19,07 μm y 23,82 μm , respectivamente), mientras que los grupos uno y dos obtuvieron valores similares de estas variables (Cuadro 5). Fontenelle *et al.*, (1994) analizando especies de *Eugenia* determinó que *E. arenaria* obtuvo 14 μm de diámetro polar y 13 μm de diámetro ecuatorial, en tanto que *E. sulcata* 27 y 24

µm, respectivamente, poniendo en evidencia la variación que puede existir incluso entre especies de un mismo género.

Otra de las características de la epidermis determinantes en la separación de grupos de especies fue la longitud de los tricomas; ésta varió de 122,53 µm en el grupo tres a 257,08 µm en el grupo uno (Cuadro 5); en relación a esta variable no se encontraron muchas referencias en Myrtaceae con las que se pudieran comparar estos valores, aun cuando se ha considerado como un carácter útil para la taxonomía de la familia (Gomes *et al.*, 2009).

Con respecto a este caracter, es importante destacar que a las especies *Psidium acutangulum*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus* cuando se analizaron morfológicamente no se les observó pubescencia a nivel del haz ni del envés, ya que en éste estudio se aplicaron procedimientos diferentes utilizando lupas estereoscópicas (capítulo de análisis morfológico de esta tesis); mientras que en esta oportunidad los tricomas se hicieron visibles en la superficie abaxial de la hoja de éstas especies, específicamente en la nervadura central o en sus adyacencias, ya que se trabajó con instrumentos de mayor precisión como el microscopio óptico y el microscopio electrónico de barrido. No obstante, no se puede dejar de considerar que los tricomas se pierdan a causa del proceso de herborización, o como lo expuso Mc Vaugh (1968), quien consideró que a pesar de representar la presencia o ausencia de pubescencia un carácter útil para las distinciones taxonómicas, ésta puede desaparecer al llegar la planta a la madurez en muchas especies.

En cuanto a las características asociadas al mesófilo, se evidenciaron diferencias en cuanto al espesor ocupado por el parénquima empalizada, por el parénquima esponjoso y en consecuencia por el mesófilo. Con referencia al primer tejido, en el grupo dos se obtuvo el menor valor (29,45 µm); los grupos uno y tres arrojaron promedios similares (53,09 µm y 59,47 µm, respectivamente) (Cuadro 5). Estos últimos valores no fueron comparables con los obtenidos por Gomes *et al.* (2009) en las especies *Psidium cattleianum* y *Psidium multiflorum* donde se

registraron espesores del parénquima en empalizada de 154 μm y 230 μm , respectivamente.

Fontenelle *et al.* (1994) encontraron diferencias al comparar cualitativamente el espesor del mesófilo en el género *Eugenia*; *E. arenaria*, *E. badia*, *E. excelsa*, *E. nítida* y *E. sulcata*, presentaron una capa o estrato de parénquima en empalizada, mientras que *E. copacabanensis*, *E. miricaensis*, *E. ovalifolia*, *E. rotundifolia*, *E. schotiana* y *E. uniflora* comprendió dos estratos, el inferior compuesto por células cortas.

De acuerdo a Torres *et al.* (2004) un parénquima empalizada que esté constituido por uno a dos estratos celulares es un carácter predominante en hojas mesomórficas, mientras que si el número es mayor (de dos a tres) corresponde a características xeromórficas.

En el parénquima esponjoso el menor valor correspondió igualmente al grupo dos (39,69 μm), así como el grupo tres obtuvo el mayor espesor (78,61 μm) (Cuadro 5). A través de análisis cualitativos realizados en otros géneros de Mirtáceas como *Amoromytella güili* (Guantay, 2008), *Campomanesia adamantium* (Camb.), *Myrcia cordiifolia* DC y *M. decrescens* O. Berg. (Gomes *et al.*, 2009) se determinó que el parénquima esponjoso se encontraba dispuesto en seis a siete estratos celulares, mientras que el empalizada se organizó en dos a tres estratos de células, ocupando desde la mitad a un tercio del espesor de la lámina.

La sumatoria de la sección transversal ocupada por el parénquima en empalizada y el parénquima esponjoso determinó el espesor del mesófilo, el cual por consiguiente fue menor en el grupo dos (64,23 μm) y mayor en el grupo tres (138,07 μm). Según Torres *et al.* (2004) estos tejidos contribuyen a incrementar el espesor total de la lámina derivando en la textura coriácea que presentan las hojas de ambientes xerofíticos.

Al correlacionar estos resultados con las condiciones ambientales donde habitan algunas de estas especies se hacen nuevamente evidentes consideraciones interesantes; así como ya se comentó, las especies *P.*

acutangulum y *P. maribense* quienes integraron el grupo dos, predominan en áreas anegadas o muy húmedas, como riberas de ríos o zonas inundables, mientras que *P. guajava* y *Calycolpus moritzianus* del grupo tres, son menos exigentes de este recurso.

En el diámetro y número de las cavidades secretoras se observó cierta variación entre los grupos de especies. El menor valor de diámetro de la cavidad secretora se registró en el grupo tres (46,59 μm), y el mayor, para el grupo dos (60,94 μm). Estos valores se asemejaron a los diámetros de cavidades registrados en las especies *P. widgrenianum* y *P. multiflorum* con medidas de 52 y 70 μm , respectivamente (Gomes *et al.* 2009). El número de estas estructuras varió de 0,47 a 0,51 cavidades \cdot 21571 μm^{-2} , no apreciándose grandes diferencias entre estos promedios.

Aún cuando las variables arriba discutidas fueron las que según el análisis de componentes principales determinaron la conformación de los grupos de las especies estudiadas, vale la pena hacer mención a otras variables que también pueden aportar a la distinción entre especies de *Psidium*, y de estas con *Calycolpus moritzianus*. En el cuadro 6 aparecen reflejados estos caracteres tomando en cuenta que los valores corresponden al promedio de los grupos, con el respectivo aporte de la especie a dicha proporción. A continuación se detallan estas variables:

1. Forma de las células epidérmicas comunes, que fue predominantemente oval en la mayoría de las especies de *Psidium*, mientras que en *C. moritzianus*, fue rectangular; en este sentido, Gomes *et al.* (2009) refirió la forma de las células de la epidermis como un carácter útil para la taxonomía de la familia. No obstante Solereder (1908), lo consideró un rasgo fuertemente influenciado por el ambiente.

2. En todas las especies de *Psidium* analizadas se evidenció la presencia de estratos celulares sub-epidérmicos cuyo número varió entre las mismas, mientras que en *C. moritzianus* no fueron visibles. *P. acutangulum*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *P. maribense* presentaron un estrato de células sub-epidérmicas; *P.*

guineense y *P. guajava* presentaron entre dos y tres capas de este tejido. Estos resultados coincidieron con una investigación preliminar en donde se comparó *P. guineense* con *P. guajava*, observándose en la primera especie en posición adaxial, inmediatamente debajo de la epidermis, la presencia de dos estratos subepidérmicos, mientras que en *P. guajava* se evidenciaron de tres a cuatro estratos celulares (Rivero *et al.*, 2011).

Gomes *et al.* (2009), mediante comparaciones de caracteres morfológicos con estudios filogenéticos realizados previamente (Wilson *et al.*, 2005; Lucas *et al.*, 2007), concluyeron que hubo ciertas características que constataron la evolución del género *Psidium* dentro de la familia Myrtaceae, entre estas la presencia de estratos subepidérmicos, por ello lo sugirieron como un carácter útil para la taxonomía de la familia. De acuerdo a Torres *et al.* (2004) la presencia de capas sub-epidérmicas correspondieron a características xeromórficas, las cuales incrementan el grosor total de las hojas y textura coriácea de las mismas. De la misma forma, Feller (1996) consideró que estas capas celulares subepidérmicas en hojas coriáceas, fueron consideradas como una protección del tejido fotosintético, especialmente cuando el metabolismo es limitado por deficiencia de nutrientes y luz excesiva.

3. La forma de las células del parénquima en empalizada en *P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. salutare* y *P. sartorianum* fue elíptica, mientras que en *C. moritzianus* se evidenciaron células alargadas, al igual que en *P. guineense* y *P. guajava*.

4. El grado de diferenciación del parénquima esponjoso fue poco en *P. acutangulum* y *P. maribense*, y bien diferenciado en *P. salutare*, *P. sartorianum* y *C. moritzianus*. En *P. guineense* y *P. guajava* se presentaron las dos condiciones, siendo predominantemente diferenciado en *P. guineense* y poco diferenciado en *P. guajava*. La escasa diferenciación de este tejido pudiera conllevar a erradas interpretaciones del tipo de mesófilo. En otras especies de Mirtáceas como *A. güili* (Guantay, 2008) y en *C. adamantium*, *M. cordiifolia* y *M. decrescens* (Gomes *et al.*, 2009) se observó el parénquima esponjoso más o menos laxo, conformado por

células lobuladas e isodiamétricas; mientras que en el análisis preliminar realizado por Rivero *et al.* (2011) al menos en *P. guajava* y *P. guineense* se asemejó a un parénquima en empalizada por la forma alargada de sus células, pudiéndose confundir con un mesófilo isobilateral; no obstante, según estudios filogenéticos previos conducidos en Mirtáceas éste tipo de mesófilo se adjudica a especies más basales como *Eucalyptus*, *Callistemon* y *Leptospermum* (Gomes *et al.*, 2009).

Torres *et al.* (2004) relacionó el grado de diferenciación del parénquima esponjoso con condiciones ambientales y refirió que una de las características que presentaron las hojas mesomórficas fue un desarrollo apreciable de este tejido, mientras que Gomes *et al.* (2009) asociaron la diferenciación del parénquima esponjoso al alto grado de evolución que de acuerdo a sus análisis filogenéticos ostenta el género *Psidium*.

5. En la nervadura central se observaron ciertas diferencias, resaltando su forma; en las especies de *Psidium* fue biconvexa, plano-convexa o cóncavo-convexa, mientras que en *C. moritzianus* se evidenciaron otras formas diferentes a las pre-fijadas en la evaluación.

6. Otro aspecto lo constituyó la forma del haz vascular que en *P. acutangulum*, *P. maribense* y *C. moritzianus* fue en arco y en *P. salutare* y *P. sartorianum* la forma correspondió a casi plano; en *P. guajava* y *P. guineense* fue predominantemente en arco y semi-arco, respectivamente.

7. Finalmente un rasgo resaltante fue la presencia de haces vasculares secundarios sólo en *C. moritzianus*, mientras que las especies de *Psidium* presentaron un único haz vascular central.

En la investigación de Gomes *et al.* (2009) la forma de la nervadura central fue un carácter muy variable entre las especies del género *Psidium*; así *P. widgrenianum* presentó nervaduras biconvexas, *P. cattleyanum* plano-convexas, mientras que en *P. guayava* y *P. multiflorum* fueron cóncavo-convexas; por otro lado *Myrcia decrescens* presentó una nervadura biconvexa, en comparación con *M. cordiifolia* donde fue plano-convexa.

Un aspecto resaltante constituyó el hecho de que *C. moritzianus* no presentó ninguna de las formas propuestas para la nervadura central, no coincidiendo totalmente con lo establecido por Gomes *et al.* (2009) quienes aseveraron que en general las especies de Myrtaceae podrían presentar formas de la nervadura media biconvexa, plano-convexa o cóncavo-convexa. Según estos autores éste carácter ha sido útil para distinguir especies de *Siphoneugenia*, *Eugenia* y *Psidium*.

Con relación a la forma del haz vascular en la nervadura central, Gomes *et al.* (2009) de acuerdo a sus observaciones en Myrtaceae, establecieron que los haces vasculares en arco o semi-arco están presentes en la nervadura media de los taxa más derivados en términos filogenéticos, mientras que los haces de forma casi plana pueden ser considerados un estado de carácter plesiomórfico. Sin embargo, la mayoría de las especies de *Psidium* analizadas en su estudio anatómico (*P. guayava*, *P. cattleyanum*, *P. multiflorum* y *P. widgrenianum*) presentaron nervaduras en forma casi plana, contradiciendo en parte la aseveración realizada por los mismos cuando establecieron que *Psidium* representa uno de los grupos más evolucionados dentro de las Mirtáceas.

La presencia de haces vasculares secundarios sólo en *C. moritzianus* representó otro aspecto de interés; en las especies de *Psidium* analizadas únicamente se evidenció un haz vascular central a nivel de la nervadura principal. Estos resultados difirieron parcialmente de los obtenidos por Backes (1971) quien observó en *P. mutiflorum* la presencia de haces secundarios a nivel de la nervadura principal. En el análisis anatómico en Myrtaceae realizado por Gomes *et al.* (2009) se determinó que la mayoría de las especies evaluadas presentaron un haz vascular único a nivel central, exceptuando a *M. decrescens* que presentó grupos adicionales de haces menores.

Por otro lado, se determinaron características anatómicas comunes entre las especies de *Psidium* y *C. moritzianus*, resaltando la presencia de epidermis simple o uniestratificada, estomas paracíticos distribuidos uniformemente, tricomas unicelulares, mesófilo bifacial o dorsiventral, presencia de idioblastos, cavidades

secretoras presentes en ambas superficies de la lámina foliar, de forma circular o redondeada, con células adyacentes de paredes anticlinales sinuosas, y haz vascular principal de tipo bicolateral con células parenquimáticas isodiamétricas y fibras en la periferia (Cuadro 6).

Otra característica que resultó similar fue la predominancia de estomas en la superficie abaxial de la lámina foliar; todas las especies estudiadas presentaron hojas hipoestomáticas, excepto *P. maribense* y *P. sartorianum*, en las cuales los estomas se hicieron evidentes también en la superficie adaxial, pero significativamente en menor cantidad con respecto al envés.

De acuerdo a Watson y Dallwitz (2007) la presencia de hojas hipoestomáticas es una característica predominante en la familia Myrtaceae. Según evidencias de análisis filogenéticos las hojas anfiestomáticas constituyen una condición plesiomórfica, mientras que las hojas hipoestomáticas representan una apomorfia en Myrtaceae; así las especies de *Leptospermum* y *Eucaliptus* que son géneros basales en la filogenia de la familia presentaron hojas con estomas en ambas superficies de la hoja; en éste último género la presencia de esta condición parece estar asociada a un mesófilo isobilateral (James *et al.*, 1999). En especies de *Psidium* analizadas por Gomes *et al.* (2009) en su estudio anatómico comparativo (*P. cattleianum*, *P. guayava*, *P. widgrenianum* y *P. multiflorum*) resultaron todas hipoestomáticas; esta misma condición fue determinada por Fontenelle *et al.* (1994) en 11 especies de *Eugenia*.

Torres *et al.*, (2004) realizó un estudio morfoanatómico en 89 especies de árboles localizados en un bosque húmedo tropical al sur de Brasil, en el cual determinó que todas presentaron hojas hipoestomáticas, lo cual puede estar relacionado a la humedad relativa (más alta en la superficie abaxial con respecto a la adaxial) y a la temperatura (mayor en la adaxial con respecto a la abaxial) de las hojas. Así mismo esta condición representó una vía para prevenir la obliteración de los poros de los estomas por organismos de la filosfera.

Algunas de las características mencionadas tales como epidermis uniestratificada, tricomas unicelulares y la presencia de cavidades secretoras fueron características anatómicas predominantes en las Mirtáceas (Metcalf y Chalk, 1979).

Torres *et al.* (2004) en su análisis comparativo, incluyó algunos representantes de las Mirtáceas, entre éstos a *P. cattleyanum*, determinando que la mayoría (84,9%) presentó una epidermis simple tanto en la superficie adaxial como en la abaxial. No obstante, Tantawy (2004) reporta en *P. guajava* una epidermis múltiple o pluriestratificada, al considerar la presencia de estratos celulares sub-epidérmicos que podría corresponder a una hipodermis.

Fahn (1990) estableció que los estratos sub-epidérmicos continuos podrían constituir una epidermis pluriestratificada o una hipodermis, dependiendo si se originaban de una protodermis o del meristemo fundamental, respectivamente; al respecto Gomes *et al.* (2008) aconsejaron que mientras el origen no se estableciera a través de análisis ontogénicos, el concepto de hipodermis podría ser útil. No obstante, Font Quer (1979) definió como hipodermis a un estrato de células de paredes gruesas, frecuentemente de tipo esclerenquimático, no correspondiendo a las características observadas en los especímenes analizados en la presente investigación.

La predominancia de un estrato epidérmico adaxial de mayor tamaño con respecto al abaxial fue otro aspecto resaltante entre las especies analizadas. El tamaño relativo de los estratos epidérmicos en las superficies foliares ha sido propuesto como un rasgo importante para agrupar o separar especies (Keating, 1984). Gomes *et al.* (2009) en su análisis filogenético refirió que la presencia de un estrato epidérmico en la superficie adaxial menor o del mismo espesor que el de la superficie abaxial se considera un carácter plesiomórfico; ésta condición se observó en clados basales como *Leptospermum* y *Eucalyptus*; mientras que un estrato adaxial mayor constituyó un estado apomórfico para Myrteae.

Los estomas paracíticos representan uno de los tipos más frecuentemente referidos para la familia Myrtaceae (Metcalf y Chalk, 1965), tal como se determinó en esta investigación al observar dos células subsidiarias o acompañantes orientadas en el mismo sentido de las células oclusivas o guardas en todas la especies; sin embargo, Gomes *et al.* (2009) acotaron que diversos complejos estomáticos han sido atribuidos a esta familia, los cuales presentaron células guardas al mismo nivel de las células epidérmicas. Arruda y Fontenelle *et al.*, (1994) establecieron que la familia no presentó un tipo estomático característico y que muchas veces las células subsidiarias se ubicaron parcialmente debajo de las células guardas, lo que dificulta en cortes paradérmicos la identificación del complejo estomático, dando la impresión de ausencia de células subsidiarias; esto explicaría las controversias sobre los tipos de estomas reportados incluso para una misma especie.

Fontenelle *et al.* (1994), reportaron estomas anomostaurocíticos, paracíticos, anisocíticos, anomocíticos, ciclocíticos y en menor proporción tetracíticos cuando estudiaron la anatomía foliar de siete especies del género *Eugenia*. De igual manera Tantawy (2004) refirió estomas anomocíticos para *P. guajava*, *Callistemon citrinus* y *Malaleuca leucadendra*, estomas anomoanisocíticos para *E. camaldulensis* y anomoparacíticos para *E. uniflora*, cuando comparó caracteres anatómicos de especies de Mirtáceas.

La distribución regular de los estomas en las superficie foliar fue característico para todas las especies analizadas, lo cual difirió de la disposición agrupada observada en *P. cattleianum* y *P. widgrenianum* por Gomes *et al.* (2009); por otro lado en el género *Eugenia* el arreglo fue variado, y pudieron observarse aislados, en pares o en grupos de tres a cuatro estomas en la región aplanada de la lámina, y no fue frecuente su presencia en las nervaduras primarias y secundarias (Fontenelle *et al.*, 1994).

El tipo de tricoma y su persistencia constituye un elemento de valor taxonómico, y representa un mecanismo de defensa contra la transpiración excesiva. Fontenelle *et al.* (1994) en especies de *Eugenia* (Myrtaceae), refirió que

la mayoría de las mismas en su estado juvenil presentaron abundantes tricomas unicelulares, desprendiéndose hacia el estado adulto; sólo se mantuvieron en las hojas maduras de *E. badia*, *E. maricaensis* y *E. nítida*, siendo por lo tanto un carácter taxonómico importante en éste género.

Es importante recordar que en esta investigación las muestras foliares de las especies estudiadas se recolectaron en estado adulto, determinándose que los tricomas fueron unicelulares.

El tipo de mesófilo dorsiventral o bifacial fue común para las especies de *Psidium* y *C. moritzianus*. Estas observaciones coincidieron con las realizadas por Torres *et al.* (2004) cuando determinó en *P. cattleianum* un mesófilo asimétrico o dorsiventral. Guantay (2008) en *A. güili* y Gomes *et al.* (2009) en *Campomanesia adamantium*, *Myrcia cordifolia* y *M. decrescens.*, evidenciaron este tipo de mesófilo. Estos últimos autores determinaron que todas las especies analizadas de Eugeniinae y Myrciinae presentaron este tipo de mesófilo, indicando que constituye un carácter apomórfico, ya que los tipos isobilateral y homogéneo se han relacionado con especies más basales en términos filogenéticos, tales como *Eucalyptus*, *Callistemon* y *Leptospermum*.

Un aspecto de interés constituye el hecho de encontrar diferencias entre especies de un mismo género en cuanto al tipo de mesófilo. En este sentido Fontenelle *et al.* (1994) en *Eugenia* determinaron que la mayoría de las especies presentaron mesófilo dorsiventral, excepto *E. copacabanensis* en donde se evidenció un mesófilo isobilateral. Igualmente Torres *et al.* (2004) en *Eugenia cerasiflora*, *E. obovata*, *E. subavenia* y *E. umbelliflora* observaron mesófilos dorsiventrales, mientras que en *E. tristis* fue visible un mesófilo homogéneo. Al respecto es importante acotar que ciertas características relacionadas al parénquima esponjoso, tal como su grado de diferenciación pudieran influir en la determinación del tipo de mesófilo; cuando este tejido presenta una incompleta diferenciación es muy probable que se confunda con mesófilos homogéneos o isobilaterales.

La mayoría de las especies revisadas en este estudio presentaron idioblastos conformados por drusas de cristales prismáticos ubicados en el mesófilo, coincidiendo con las observaciones realizadas por Gomes *et al.* (2009) en *P. cattleyanum*, *P. guayava* y *P. widgrenianum*, quienes notaron la presencia de drusas en esta región de la lámina foliar.

Fontenelle *et al.* (1994) en especies de *Eugenia* evidenciaron drusas en series en el parénquima en empalizada de *E. excelsa*; éstos autores señalaron que las drusas podrían estar presentes en todas las especies del género en la transición del parénquima en empalizada y esponjoso, además los cristales prismáticos fueron muy abundantes en el floema. En la investigación realizada por Torres *et al.* (2004) se determinó que la presencia de cristales fue común para el 50% de las especies estudiadas.

Según Volk *et al.* (2002) los cristales de oxalato de calcio son producto del metabolismo vegetal y están asociados a la remoción de excesos de calcio del sistema. La alta prevalencia de cristales en las hojas podría ser interpretada como una defensa a la herbivoría haciendo las hojas menos palatables (McKey *et al.*, 1978). Las hojas de las plantas que presentaron altos contenidos de cristales se encontraron principalmente creciendo en suelos de baja fertilidad, donde las plantas perdieron abundantes tejidos y nutrientes por la acción de herbívoros (Aerts y Chapin, 2000).

La presencia de cavidades secretoras de forma circular en ambas superficies de la lámina foliar constituyó otro rasgo común entre las especies analizadas, y está considerada como una característica propia de la familia Myrtaceae (Metcalf y Chalk, 1950). De acuerdo a Gómez *et al.* (2009) los idioblastos secretores estuvieron ausentes en los taxa más basales de Myrtaceae, de manera que su presencia podría ser considerada un estado de carácter apomórfico.

En *Myrtus communis* se estudió la morfología, anatomía e histoquímica de las cavidades secretoras, determinándose que tuvieron origen esquizolisígeno,

una combinación de desarrollo esquizógeno y lisígeno. En la madurez las cavidades estuvieron constituidas por una vaina de células aplanadas, ya que las células secretoras fueron completamente degeneradas. La presencia de lípidos, terpenos y fenoles identificados en el lumen podría estar asociado a diferentes funciones ecológicas, especialmente dependiendo del órgano donde se encontraron distribuidas (Cicarelli *et al.*, 2008).

Gomes *et al.* (2009) en las especies de *Psidium* analizadas en su estudio evidenció la presencia de cavidades secretoras sólo en la superficie abaxial de la lámina foliar. Por el contrario Fontenelle *et al.* (1994) en especies de *Eugenia* determinó que las cavidades secretoras estuvieron presentes en el centro del mesófilo, o a nivel sub-epidérmico en ambas superficies; en todas las observaciones realizadas por estos autores fue evidente una o más células intermedias entre la epidermis y la cavidad.

En cuanto al haz vascular todas las especies de *Psidium* y *C. moritzianus* presentaron en la nervadura central un haz de tipo bicolateral. De acuerdo a Vliet y Baas (1984) los haces vasculares bicolaterales en las venas medias fue una característica predominante en el orden Myrtales. En este haz vascular típico de este grupo, las prolongaciones de los dos floemas se encontraron casi en contacto, estando el floema abaxial más definido que el adaxial. Finalmente, se visualizó en todas las especies analizadas células de parénquima de forma isodiamétrica, así como fibras en la periferia del haz vascular. Fontenelle *et al.* (1994) en especies de *Eugenia* observó grupos de fibras en los márgenes del haz vascular, o contiguas al floema.

Tomando en consideración los caracteres anatómicos cualitativos (Cuadro 6) se presentan a continuación las descripciones de las especies analizadas:

***P. acutangulum* DC.**

Epidermis simple de paredes predominantemente de contornos ovales y con estrato epidérmico adaxial mayor que el abaxial; un estrato sub-epidérmico presente. Hojas hipoestomáticas con estomas paracíticos, distribuidos uniformemente en el área foliar (figura 3A); tricomas unicelulares. Mesófilo bifacial, parénquima en empalizada con células de forma elíptica, parénquima esponjoso poco diferenciado (figura 3B). Presencia de idioblastos conteniendo drusas de cristales prismáticos. Cavidades secretoras de forma circular, presentes en ambas superficies de la lámina foliar (figura 3C). Haz vascular en la nervadura central de tipo bicolateral, en forma de arco, con fibras pericíclicas (figura 3D); haces vasculares secundarios ausentes.

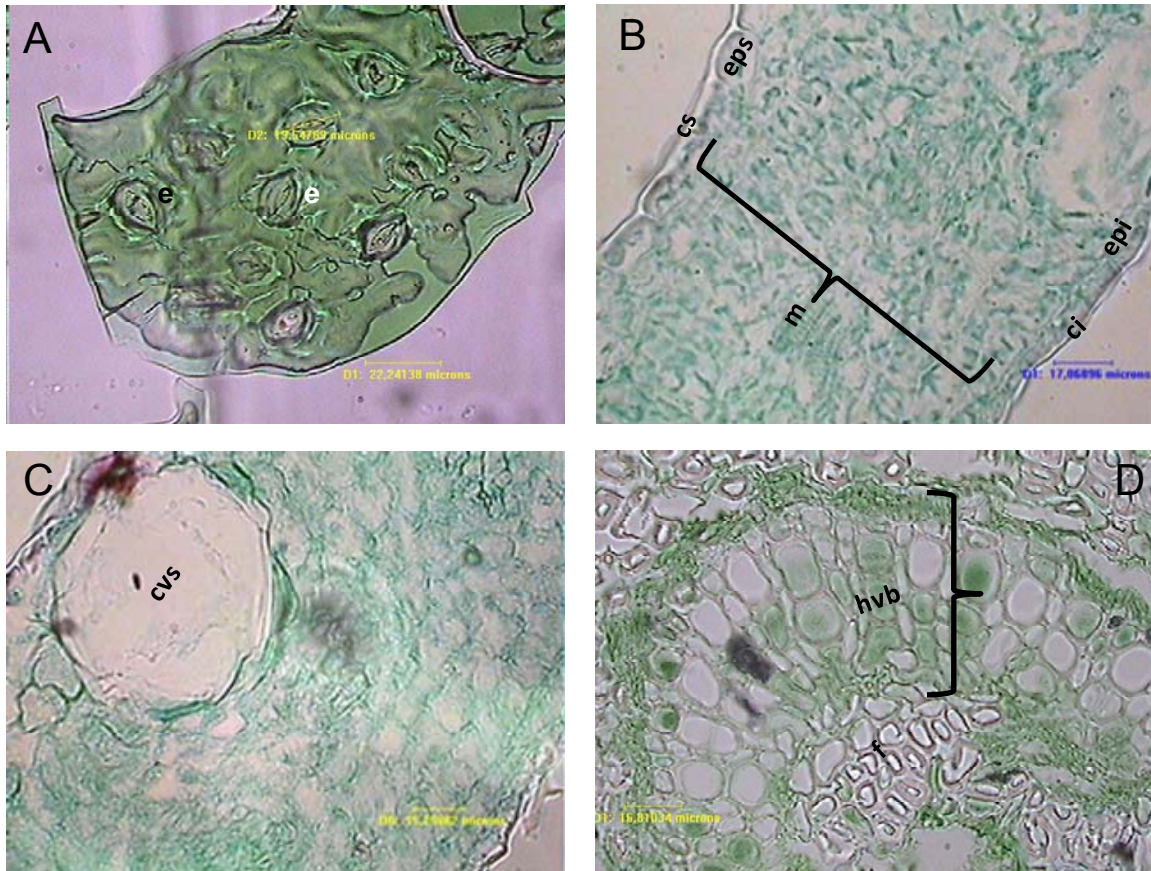


Figura 3. Lámina foliar de *Psidium acutangulum*. A) Corte tangencial mostrando estomas paracíticos en superficie abaxial. e= estomas. B) Corte transversal mostrando: Mesófilo poco diferenciado. cs= cutícula superior, ci= cutícula inferior, eps= epidermis superior, epi= epidermis inferior, m= mesófilo. C) Corte transversal donde se observa cavidad secretora. cvs= cavidad secretora, y D) Corte transversal con detalles del haz vascular bicolateral y fibras pericíclicas. hvb= haz vascular bicolateral, f= fibras. 400X.

***Psidium guajava* L.**

Epidermis uniestratificada; células epidérmicas de contornos ovales; estrato epidérmico abaxial menor que el adaxial; debajo de ésta última superficie se observan dos, tres o hasta cuatro estratos subepidérmicos (figura 4A); estomas paracíticos, distribuidos uniformemente en el envés; tricomas unicelulares (figuras 4C y 4D). Región del mesófilo dividido en parénquima empalizada y parénquima esponjoso determinando dorsiventralidad; células del parénquima en empalizada predominantemente de formas alargadas; parénquima esponjoso poco diferenciado o diferenciado (figuras 4E y 4F); presencia de drusas con cristales prismáticos (idioblastos) (figura 4G). Cavidades secretoras de forma circular a nivel sub-epidérmico en ambas superficies de la hoja (figuras 4H y 4I), las células adyacentes a éstas de paredes anticlinales sinuosas. Nervadura central de forma cóncavo-convexa o plano-convexa; haz vascular principal bicolateral, en arco o semi-arco; haces vasculares secundarios ausentes (figura 4J); células parenquimáticas de formas isiodiamétricas en el haz vascular principal (figura 4K); presencia de fibras pericíclicas.

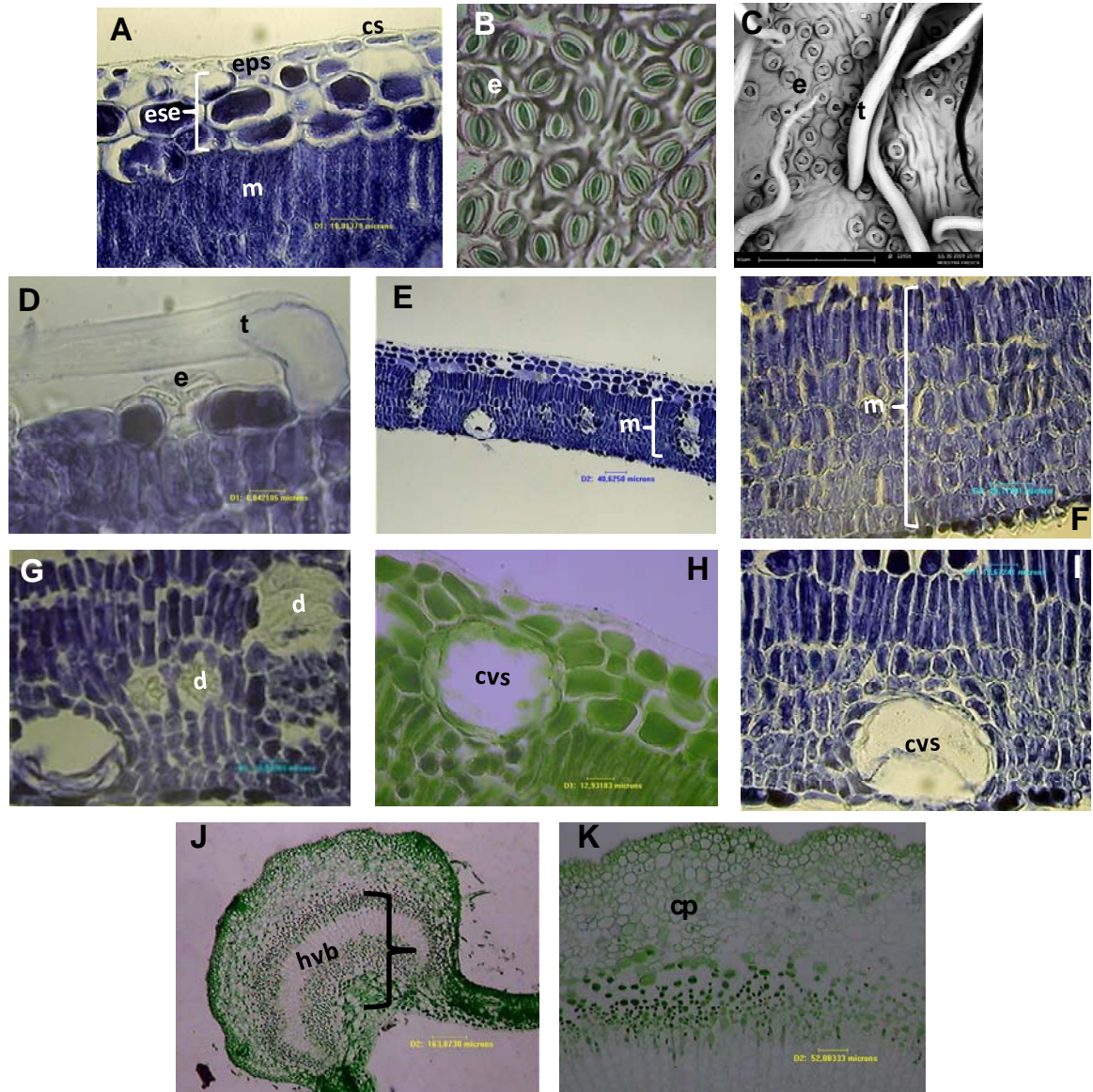


Figura 4. Lámina foliar de *Psidium guajava*. A) Corte transversal mostrando detalles de la epidermis y estratos sub-epidérmicos. cs= cutícula superior, eps= epidermis superior, ese= estrato subepidérmico, m= mesófilo; 400X. Corte tangencial mostrando: B) estomas paracíticos. e= estoma. 400X; y C) Estomas y tricomas vistos con microscopio electrónico de barrido. e= estoma, t= tricoma; 1240X. Corte transversal mostrando: D) Estoma y tricoma. e= estoma, t= tricoma; 1000X. E y F) Detalles del mesófilo. 40X y 400X, respectivamente, m= mesófilo. G) Drusas de cristales prismáticos en el mesófilo. d= drusas; 400X. H e I) Cavidades secretoras en posición adaxial y abaxial, respectivamente, cvs= cavidad secretora; 400X. J) Nervadura principal con haz vascular biclateral. hvb= haz vascular biclateral. 40X. K) Detalle de las células parenquimáticas. cp= células parenquimáticas; 100X.

***Psidium guineense* Sw.**

Células de la epidermis con paredes de contornos ovales, de tipo simple o uniestratificada, siendo el estrato adaxial mayor que el abaxial; inmediatamente debajo de la epidermis adaxial se evidencian dos o hasta tres estratos subepidérmicos (Figura 5A). Estomas paracíticos distribuidos uniformemente en el envés de la lámina foliar; tricomas unicelulares (figuras 5B y 5C). Mesófilo dorsiventral o bifacial; predominio de forma alargada de las células del parénquima en empalizada; parénquima esponjoso diferenciado o poco diferenciado (figuras 5D y 5E). Cavidades secretoras de forma circular, distribuidas en ambas superficies de la lámina; células adyacentes a estas cavidades de contornos sinuosos. Se evidenció la presencia de drusas de cristales prismáticos (figura 5F). Forma de la nervadura central plano-convexa, en menor proporción biconvexa; haz vascular bicolateral; forma del haz vascular principal en semi-arco y en algunos casos en arco; haces vasculares secundarios ausentes; células parenquimáticas que acompañan el haz vascular principal de forma isodiamétrica; presencia de fibras pericíclicas (figura 5G).

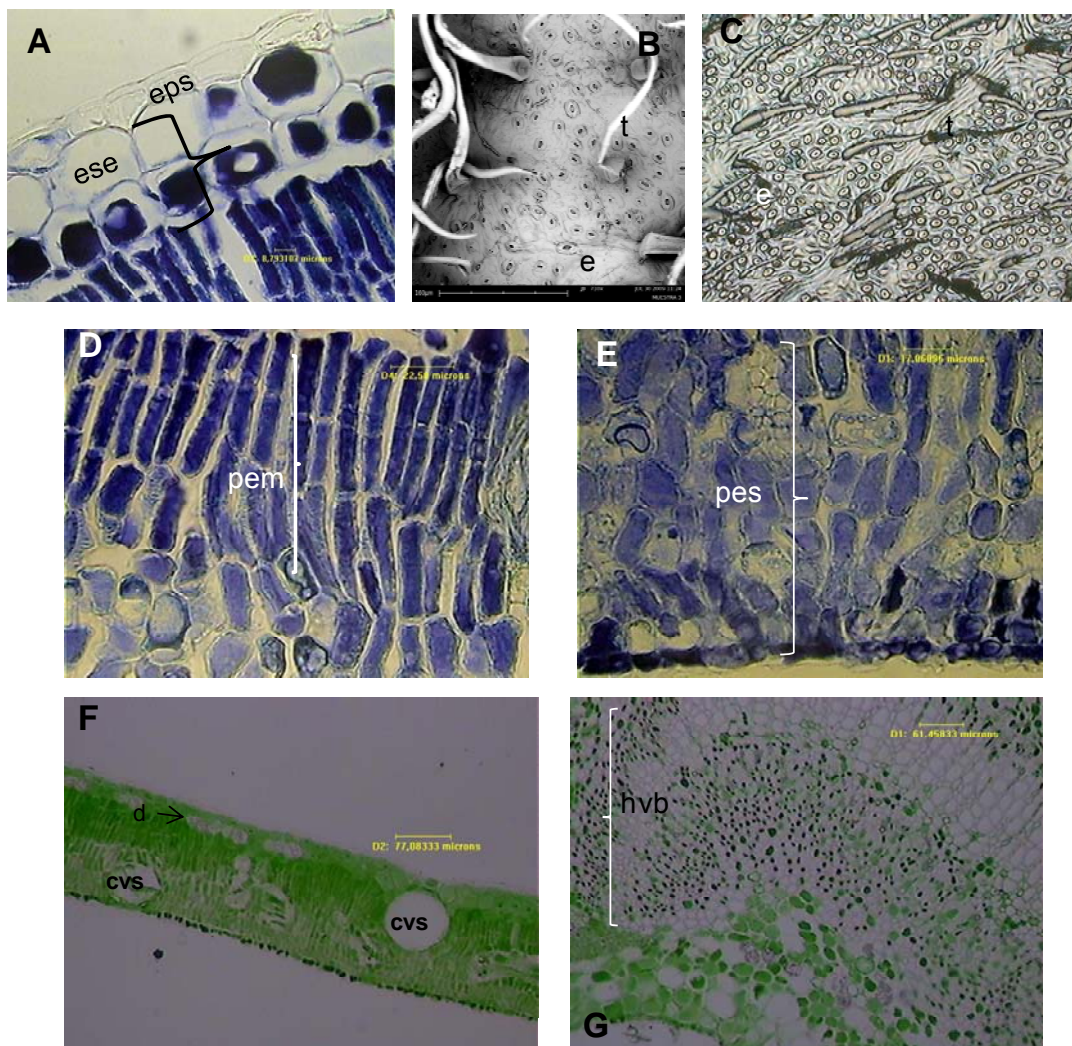


Figura 5. Lámina foliar de *Psidium guineense*. A) Corte transversal mostrando detalles de la epidermis y estratos subepidérmicos; 400X eps= epidermis superior, ese= estrato subepidérmico. B) Corte tangencial mostrando estomas y tricomas vistos con microscopio electrónico de barrido; 710X C) Estomas y tricomas con microscopio óptico; 100X e= estomas, t= tricomas. Corte transversal mostrando: D) Detalle del parénquima en empalizada; y E) Parénquima esponjoso; 400X pem= parénquima en empalizada, pes= parénquima esponjoso. F) Corte transversal mostrando cavidades secretoras en ambas superficies de la lámina foliar y drusas a nivel sub-epidérmico; 40X cvs= cavidades secretoras, d= drusas y G) Detalles del haz vascular en nervadura principal; 400X hvb= haz vascular bicolateral.

***Psidium maribense* DC.**

Epidermis simple de células ovaladas; estrato epidérmico adaxial mayor con respecto al abaxial; presencia de un estrato sub-epidérmico en posición adaxial (figura 6A). Estomas paracíticos distribuidos uniformemente en ambas superficies de la lámina foliar, en mayor cantidad en la cara abaxial; tricomas unicelulares. Mesófilo bifacial; parénquima en empalizada con células de forma elíptica, parénquima esponjoso poco diferenciado (figura 6A). Presencia de drusas. Cavidades secretoras de forma circular, localizadas en ambas superficies de la lámina foliar, ocupando gran parte de la sección transversal de la lámina; las células que las rodean con márgenes sinuosos. Nervadura central de forma plano-convexa (figura 6B), con haz vascular bicolateral en forma de arco, células parenquimáticas que rodean al haz vascular principal de forma isodiamétrica; haces vasculares secundarios ausentes (figura 6C).

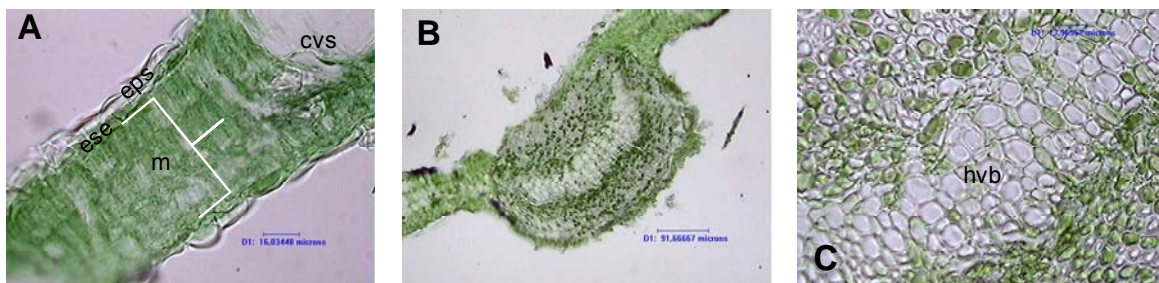


Figura 6. Lámina foliar de *Psidium maribense*. Cortes transversales mostrando: A) Detalles de la epidermis, del mesófilo y cavidad secretora; 100X. eps= epidermis superior, ese= estrato sub-epidérmico, m= mesófilo, cvs= cavidad secretora. B) Nervadura principal; 40X, y C) Detalles del haz vascular; 400X. hvb= haz vascular bicolateral.

***Psidium salutare* (Kunth) O. Berg**

Epidermis simple con células de forma oval, estrato epidérmico adaxial mayor que el abaxial; un estrato sub-epidérmico presente (figura 7A). Mesófilo bifacial; parénquima en empalizada con células de forma elíptica; parénquima esponjoso diferenciado. Presencia de idioblastos (figura 7B). Cavidades secretoras de forma circular, distribuidas tanto en la superficie adaxial como en la abaxial de la lámina, con células adyacentes de paredes sinuosas (figuras 7C y 7D). Nervadura principal de forma biconvexa (figura 7E), tipo de haz vascular bicolateral, haz vascular casi plano, con fibras pericíclicas; forma de las células parenquimáticas en el haz de forma isiodiamétrica (figura 7F).

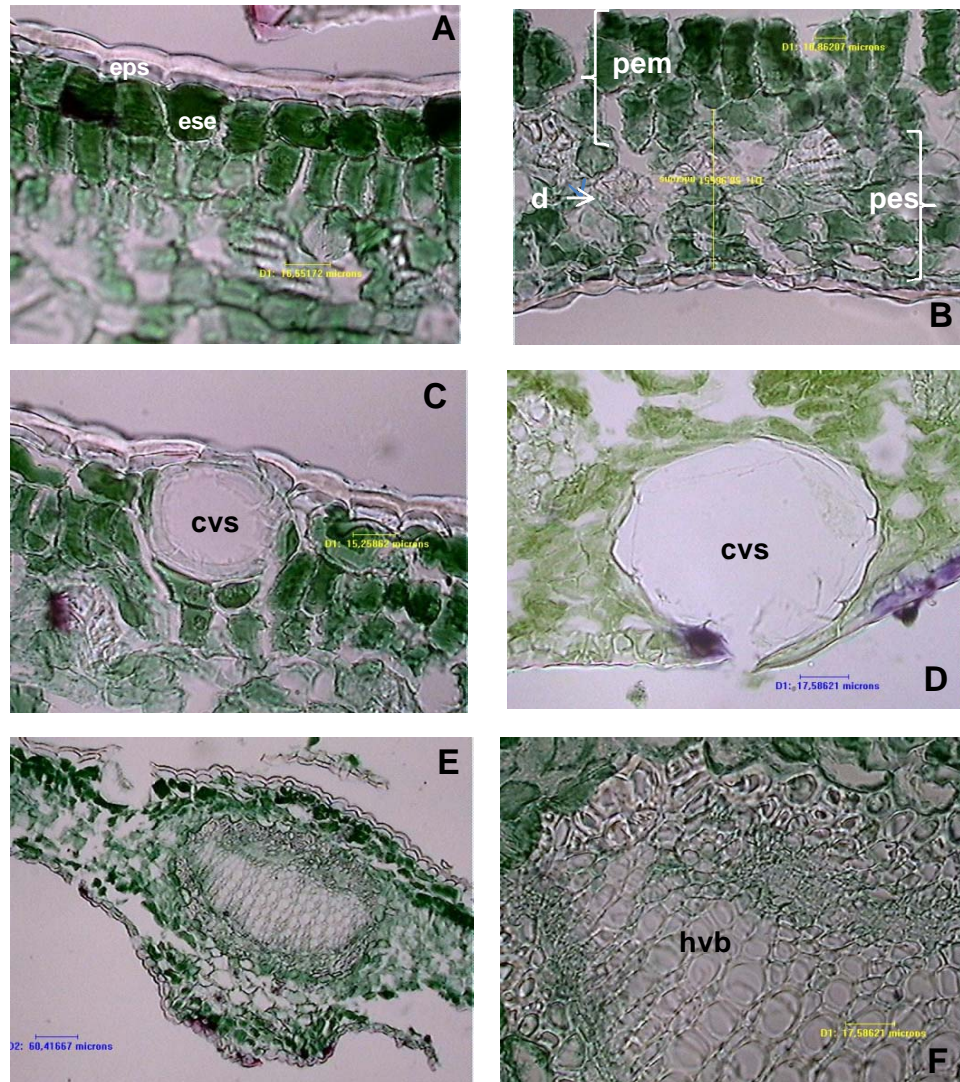


Figura 7. Lámina foliar de *Psidium salutare*. A) Cortes transversales mostrando: A) Detalle de la epidermis y estrato sub-epidérmico; 400X eps= epidermis superior, ese= estrato sub-epidérmico. B) Parénquima en empalizada, parénquima esponjoso y drusas; 400X pem= parénquima en empalizada, pes= parénquima esponjoso, d= drusas. C) Cavidad secretora en superficie adaxial; 100X D) Cavidad secretora en superficie abaxial; 400X cvs= cavidad secretora. E) Detalle de la nervadura principal; 100X y F) Haz vascular; 400X hvb= haz vascular bicolateral.

***Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.**

Células epidérmicas de forma oval, dispuestas en un solo estrato celular; epidermis adaxial de mayor tamaño con respecto a la abaxial; presencia de un estrato subepidérmico (figura 8A). Estomas paracíticos distribuidos uniformemente en ambas superficies de la lámina foliar, en mayor cantidad en la cara abaxial; tricomas unicelulares. Mesófilo bifacial; células de parénquima en empalizada de forma elíptica y parénquima esponjoso diferenciado (figuras 8B y 8C). Cavidades secretoras de forma circular distribuidas en ambas superficies de la lámina; células adyacentes a éstas cavidades de contornos sinuosos (figura 8D). En la región del mesófilo se observaron idioblastos. Forma de la nervadura principal plano-convexa o biconvexa; haz vascular bicolateral, en forma casi plana (figura 8E); haces vasculares secundarios ausentes; células parenquimáticas que acompañan el haz vascular principal de forma isiodiamétrica; presencia de fibras pericíclicas.

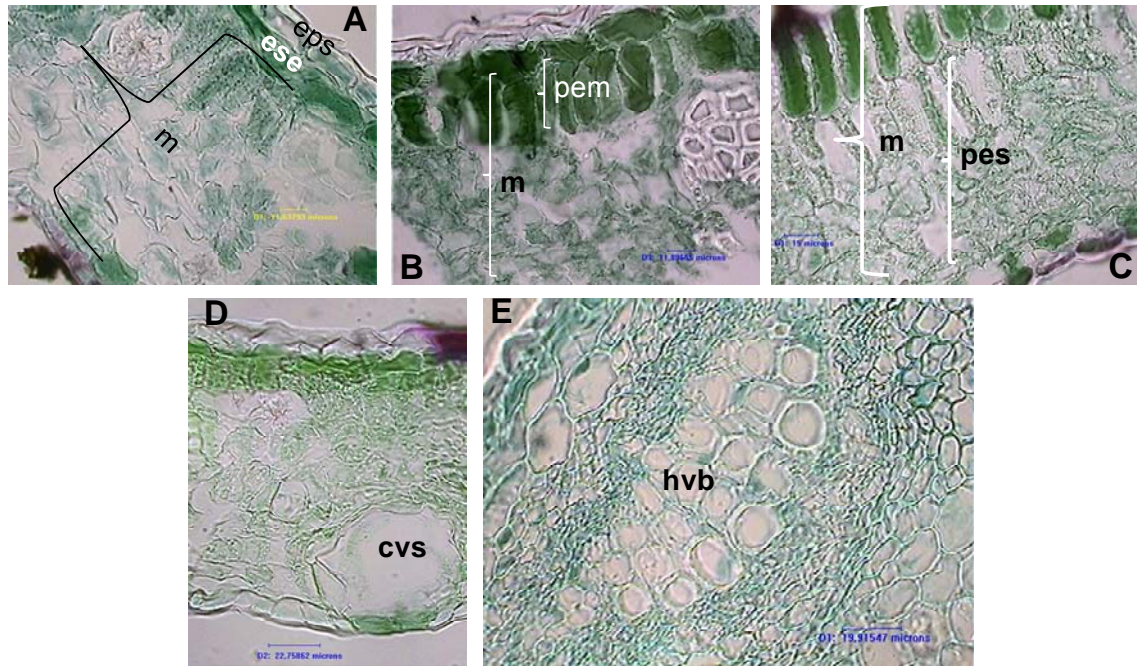


Figura 8. Lámina foliar de *Psidium sartorianum*. Cortes transversales mostrando: A) Detalles de la epidermis superior y estrato sub-epidérmico; 400X eps= epidermis superior, ese= estrato sub-epidérmico, m= mesófilo. B) Detalles del mesófilo: parénquima en empalizada; 400X pem= parénquima en empalizada, m= mesófilo C) Parénquima esponjoso; 400X pes= parénquima esponjoso, m= mesófilo. D) Cavity secreta en superficie abaxial; 100X cvs= cavity secreta E) Detalle del haz vascular; 400X hvb= haz vascular bicolateral.

***Calycolpus moritzianus* (O. Berg) Burret**

Epidermis uniestratificada de células con forma rectangular; estrato epidérmico adaxial mayor que el abaxial; capas celulares subepidérmicas ausentes (figura 9A). Estomas paracíticos distribuidos uniformemente en hojas hipoestomáticas; tricomas unicelulares. Mesófilo bifacial, con células de parénquima en empalizada de forma alargada; parénquima esponjoso diferenciado (figura 9B). Cavidades secretoras de forma circular, distribuidas en ambas superficies de la lámina foliar; células adyacentes a éstas cavidades de contornos sinuosos (figura 9C). En la región del mesófilo se observaron idioblastos. Forma de la nervadura principal diferente a la biconvexa, plano-convexa ó cóncavo-convexa; haz vascular bicolateral; forma del haz vascular principal en arco, bordeado por fibras y células parenquimáticas de forma isiodiamétrica; haces vasculares secundarios presentes (figura 9D).

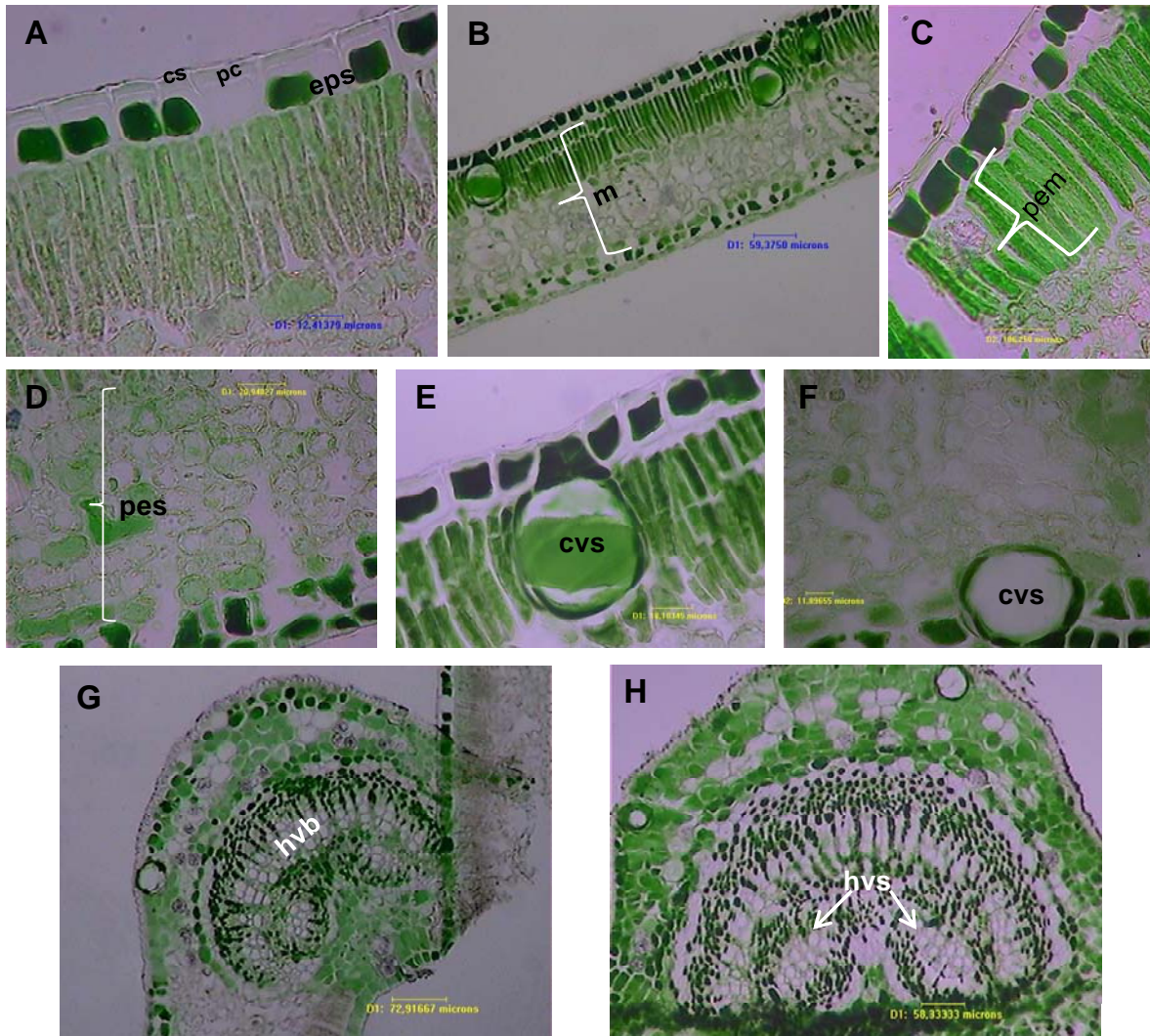


Figura 9. Lámina foliar de *Calycolpus moritzianus*. Cortes transversales mostrando: A) Detalles de la epidermis; 400X. cs= cutícula superior, pc= pared celular, eps= epidermis superior. B) Detalles del mesófilo bifacial; 100x. m= mesófilo. C) Parénquima en empalizada; 400X pem= parénquima en empalizada. D) Parénquima esponjoso; 400X pes= parénquima esponjoso. E) y F) Cavidades secretoras en superficie adaxial y abaxial; respectivamente, 400X cvs= cavidad secretora. G) Detalles de la nervadura principal; 100X, y H) Haces vasculares secundarios; 100X hvb= haz vascular bicoloral, hvs= haces vasculares secundarios.

CONCLUSIONES

El grosor de la cutícula foliar y el de la pared de la célula epidérmica, el ancho y longitud de estoma, la longitud de tricomas, el grosor de los estratos parénquimáticos y el del mesófilo, el número y diámetro de las glándulas secretoras, representaron las características de la lámina foliar determinantes en la conformación de tres grupos de especies de *Psidium* y en donde se incorporó también *Calycolpus moritzianus* como especie relacionada.

Caracteres como la forma de las células epidérmicas comunes, la presencia y número de estratos celulares sub-epidérmicos, la forma de las células del parénquima en empalizada, el grado de diferenciación del parénquima esponjoso, la forma de la nervadura y haz vascular central, y la presencia de haces vasculares secundarios, resultaron variables anatómicas diferenciales de tipo cualitativo, que en combinación con los rasgos semejantes observados en las especies evaluadas permitieron su descripción.

Estas características anatómicas de la región del mesófilo y de la epidermis foliar, complementadas con otras fuentes de información, aportan información relevante para el tratamiento taxonómico del género *Psidium* en Venezuela.

LITERATURA CITADA

- Aerts, R. y Chapin III, F. S. 2000. The Mineral Nutrition of Wild Plants revisited: Re-evaluation of processes and Patterns. *Advances in Ecological Research* 30: 1-67.
- Arruda, R. y Fontenelle, G.B. 1994. Contribuição ao estudo da anatomia foliar de *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 17: 25-35.
- Backes, A. 1971. Contribuição ao estudo da anatomia foliar e da fisiologia de *Psidium multiflorum* Camb. *Ciência e Cultura* 23: 297-303.
- Espinosa, G.; Vargas, G. y Engleman M. 2002. Contribución al estudio de la anatomía foliar del icaco (*Chrysobalanus icaco* L.). *Bioagro* 14: 29-36.
- Fahn, A. 1990. *Plant Anatomy*. Oxford, Pergamon Press. 767 p.
- Feller, L.C. 1996. Effects of nutrient enrichment on leaf anatomy of dwarf *Rhizophora mangle* L. (red mangrove). *Biotropica* 28: 13-22.
- Font Quer, P. 1979. *Diccionario de Botánica*. Labor. Barcelona. 1244 p.
- Fontenelle, G.B.; Costa, C.G. y Machado, R.D. 1994. Foliar anatomy and micromorphology of eleven species of *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 115: 111-133.
- Guantay, M. E. 2008. Anatomía y arquitectura foliar de *Amomyrtella güili* (Speg.) Kausel (Myrtaceae). *Lilloa* 45: 66–72.
- Hickey, L. J. y J. A. Wolfe. 1975. The bases of Angiosperm phylogeny. Vegetative morphology. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 62: 538-589.
- Hokche, O.; Berry, P. y Hubber, O. 2008. Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. 859 p.

Image-Pro Plus. 1999. Versión 4.0 para Windows Media Cybernetics, Inc.

Jáuregui, D. y A. Cardozo. 2000. Anatomía foliar de dos especies de Chrysobalanaceae presentes en el Parque Nacional Henri Pittier. Acta Botánica Venezuelica 23: 9-18.

Johnson, L.A.S. y Briggs, B.G. 1984. Myrtales and Myrtaceae – a phylogenetic analysis. Annals of the Missouri Botanical Garden 71: 700-7

Keating, R.C. 1984. Leaf histology and its contribution to relationships in the Myrtales. Annals of the Missouri Botanical Garden 71: 801-823.

Khatijah H.; Cutler, D.R. y Moore, D.M. 1992. Leaf anatomical studies of *Eugenia* L. (Myrtaceae) species from the Malay Peninsula. Botanical Journal of the Linnean Society 110: 137-156.

Landrum, L. 2003. Flora of the Venezuelan Guayana, Volume 7, Myrtaceae-Plumbaginaceae, Missouri Botanical Garden Press, St. Louis

Lucas, E.J.; Harris, S.A.; Mazine, F.F.; Belsham, S.R.; Lughadha, E.M.N.; Telford, A.; Gasson, P.E. & Chase, M.W. 2007. Suprageneric phylogenetic of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). Táxon 56: 1105-1128.

Mc Vaugh, R. 1956. Tropical American Myrtaceae. Notes on generic concepts and descriptions of previously unrecognized species. Fieldiana: Botanica 29: 145-228.

Mc Vaugh, R. 1968. The genera of American Myrtaceae- An Interim report. Taxon.17: 354-415.

Martin, J. T. y Juniper, B. E. 1970. The cuticles of plants. New York : St. Martin's Press.

McKey, D.; Aterman, P. J. W.; Mbi, C. N.; Gartlan, J. S. and Struhsaker, T. T. 1978. Phenolic content of vegetation in two african rain forests: ecological implications. Science 202: 61-63.

Metcalf, C. R y L. Chalk. 1950. *Anatomy of the Dicotyledons*. Oxford, Clarendon Press. Ed. 2. Vol I.

Metcalf, C.R y Chalk, L. 1965. *Myrtaceae*. In: *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. 1, Oxford: Clarendon Press.

Metcalf, C.R. y Chalk, L. 1979. *Anatomy of the dicotyledons*. Oxford, Clarendon Press.

Peña-Valdivia, C.; Sánchez, A.; Rangel, J.; Juárez, J.; García, R. y Celis R. 2010. Anatomical root variations in response to wáter deficit: wild and domesticated common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Biological Research* 43: 417-427.

Rivero G.; Pacheco, D.; Sánchez, A.; Quirós, M.; Suárez E.; Fuenmayor, J. y Sthormes, G. 2011. Análisis preliminar de las características anatómicas foliares de *Psidiu guajava* L. y *Psidium guineense* Sw. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 28: Suplemento especial 1.

Ronse, L. P.; De Laet, J. y Smets, E. 1996. Morphological studies in Zygophyllaceae. II. The floral development and vascular anatomy of *Peganum harmala*. *American Journal of Botany*. 83: 201-215.

SAS, Institute. INC. 2005. SAS (Statistycal Analysis System) the Institute INC, Cary, NC. USA. Versión 9.1.3.

Sandoval, E. 2005. Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal. Cuadernos 38, Instituto de Biología de la UNAM, México DF. 278 p.

Solereeder, H. 1908. *Systematic anatomy of the dicotyledons*. Vol. I. Oxford, S.

Tantawy, M. 2004. Morpho-anatomical study on certain taxa of Myrtaceae. *Asian Journal of Plant Sciences* 3: 274-285.

Torres, M.; Alves, L. y Rejane R. 2004. Leaf Morphology of 89 Tree Species from a Lowland Tropical Rain Forest (Atlantic Forest) in South Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47: 933-943.

Tuffi-Santos, L.D.; Iarema, L.; Thadeo, M.; Ferreira, F.A. y Meira, R. 2006. Características da epiderme foliar de eucalipto e seu envolvimento com a tolerância ao glyphosate. *Planta Daninha* 24: 513-520.

Volk, G. M.; Lynch-Holm, V. J.; Kostman, T. A.; Goss, L. J. y Franceschi, V. R. 2001. The role of druse and raphide calcium oxalate crystals in tissue calcium regulation in *Pistia stratiotes* leaves. *Plant Biology*. 4: 34-45.

Wilcox, D.; Dove, B.; Mc David, D. y Greer, D. 2002. Image tool for Windows. Versión 3.0. The University of Texas. Health Science Center. San Antonio, Texas.

Wilson, P.; O'Brien, M.; Gadek, P. y Quinn, C. 2001. Myrtaceae revisited: A reassessment of infrafamilial groups. *American Journal of Botany* 88:2013-2025.

Wilson, P.G.; O'Brien, M.M.; Heslewood, M.M. y Quinn, C.J. 2005. Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a matK phylogeny. *Plant Systematics and Evolution* 251: 3-19.

CAPÍTULO IV

Flavonoides presentes en especies de *Psidium* (MYRTACEAE) de Venezuela

G. Rivero-Maldonado, D. Pacheco, L. Martín, A. Sánchez, M. Quirós, J. Ortega, C. Colmenares y B. Bracho. 2013. Flavonoides presentes en especies de *Psidium* de Venezuela. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 30: 217-241.

RESUMEN

Los estudios basados en la identificación de flavonoides, representan una importante herramienta para la obtención de caracteres útiles en tratamientos taxonómicos. Considerando que el género *Psidium* en Venezuela no ha recibido la debida atención en este sentido, y que dentro de la familia Myrtaceae es uno de los grupos con un alto número de representantes en el país, en este trabajo se planteó como objetivo determinar los principales flavonoides presentes en especies de *Psidium* reportadas para Venezuela, con la finalidad de obtener datos útiles que permitan esclarecer, junto a otras fuentes de información, las relaciones taxonómicas dentro del mismo. Se evaluaron las especies: *Psidium acutangulum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus*, recolectadas en diversas localidades del país, cuyas hojas se sometieron a una hidrólisis ácida y posterior determinación empleando HPLC. Se identificaron los flavonoides miricetina, luteonina, quercetina, apigenina y kaempferol. La información obtenida se analizó a través de las técnicas multivariadas: Cluster y Componentes Principales. Los resultados determinaron la formación de 5 grupos donde las especies de *Psidium* y *C. moritzianus* se distribuyeron dependiendo de la presencia y concentración principalmente de kaempferol, miricetina y luteonina. Un factor de variación importante pudo derivarse del origen de las muestras, lo cual debe ser considerado en futuras investigaciones. La información generada se complementará con otros caracteres taxonómicos a fin de contribuir a la determinación de los límites genéricos de *Psidium*.

Palabras clave: *Psidium*, flavonoides, Venezuela, fitoquímica.

ABSTRACT

Studies based on the identification of plant flavonoids represent an important tool to get useful characters in taxonomic analysis. The genus *Psidium* in Venezuela has not received attention in this aspect, even though it is one of the best represented genus of the family Myrtaceae. Therefore, we consider necessary to extract and determine the flavonoids present in different *Psidium* species reported for Venezuela, we also consider that this kind of phytochemical information along with the morphological characters will help to understand the systematic relationships of the species within this genus. Leaves of *Psidium acutangulum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* and *Calycolpus moritzianus* were collected from different localities in Venezuela and they were processed via acid hydrolysis of flavonoids using HPLC method. The following flavonoids were extracted from the samples: Miricetin, Luteolin, Quercetin, Apigenin y Kaempferol. The resulting data for all the species was analyzed by multivariate statistical methods of Clustering Procedures and Principal Components analysis. The analysis showed 5 clusters, where the species of *Psidium* and *C. moritzianus* got distributed according to the presence and concentration of kaempferol, miricetina y luteonina. The different sampling locations of the samples could have been an important factor of variation and we recommend considering this aspect in future studies. The information obtained from this study will be complemented with morphological characters in order to contribute with the generic limits of *Psidium*.

Key words: *Psidium*, flavonoids, Venezuela, phytochemistry.

INTRODUCCIÓN

Los metabolitos secundarios de las plantas resultan de la biosíntesis, transformación y degradación de compuestos endógenos mediante proteínas especializadas (Cowan, 1999); entre estos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lecitinas y polipéptidos.

Albornoz (1980) refiere que los alcaloides son frecuentes en las angiospermas y consideran que estas moléculas complejas están limitadas a determinados géneros, especies, familias o comunidades, para los cuales son específicos; mientras que los flavonoides, constituyen uno de los grupos de metabolitos secundarios de las plantas superiores que abundan en especies leñosas. Según Marcano y Hasegawa (2002) los flavonoides se encuentran distribuidos en todos los órganos de las plantas, proporcionándoles ventajas fisiológicas y ecológicas, ya que son componentes de esencias que le confieren a la planta aromas para atraer insectos o repeler herbívoros, actuando como disuasorios nutritivos de los últimos.

La fitoquímica comprende el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal. Los métodos de estudio dependen de los objetivos de la investigación; en Botánica pueden contribuir a la identificación taxonómica de las plantas, a través de la determinación y cuantificación de los compuestos que se encuentran presentes en los extractos vegetales (Marcano y Hasegawa, 2002). Los metabolitos secundarios evolucionaron selectivamente en el reino vegetal, a veces sólo una especie o un grupo de ellas los presentan, de allí su utilidad en Botánica Sistemática.

Según Lucas *et al.*, (2005) en la familia Myrtaceae se han generado considerables discordancias entre los autores en cuanto a circunscripción tanto de géneros como de especies; en su mayoría los principales estudios han sido realizados en géneros del paleotrópico, sobre todo australianos, mientras que sólo algunos de los grupos americanos han sido revisados a través de deficientes análisis sistemáticos. Esta familia incluye aproximadamente 133 géneros y más de

3800 especies. Su centro de diversidad está en Australia, sureste asiático y las regiones tropicales y subtropicales del continente Americano, teniendo una pequeña representación en África (Wilson *et al.*, 2001).

En Venezuela, existen 19 géneros de Myrtaceae, 210 especies nativas o naturalizadas, incluyendo 34 especies endémicas (Hokche *et al.*, 2008), dentro de los cuales destaca *Psidium* por incluir especies con importancia frutícola, siendo *P. guajava* (“guayaba”), una de las plantas más cultivadas en todas las regiones secas, que ha sido naturalizada mucho más allá de su distribución original, presumiblemente, América Tropical.

Psidium es un género conformado por no menos de 100 especies, distribuidas desde México y el Caribe a Uruguay y norte de Argentina en el continente americano, extendiéndose a algunas islas de noreste pacífico (ej. Galápagos). Dentro de esta gran diversidad existen tipos morfológicos muy semejantes entre sí, generándose con ello confusiones a nivel taxonómico. Las grandes variaciones en el estimado del número de especies dentro del género *Psidium* es producto de la existencia de complejos de entidades que pueden por sí mismas ser consideradas especies sencillas o grupos de especies; entre estos se encuentran los complejos *Psidium guineense*, *P. salutare* y *P. cinereum* (Bruce *et al.*, 2003).

Sánchez-Vindas (1990), resalta la importancia de ciertos caracteres morfológicos en Mirtáceas (número de lóbulos de cáliz, características de las inflorescencias, ángulo de inclinación de los nervios laterales, entre otros), para la separación de especies muy relacionadas. Sin embargo, refiere que uno de los principales problemas en las identificaciones taxonómicas es la imposibilidad de encontrar las plantas con flores y frutos al mismo tiempo, además que las características florales y vegetativas son muy uniformes en toda la familia; por otro lado considera, que a pesar que las características embrionarias son las más importantes para la determinación genérica, no son fáciles de observar en material seco. Gomes *et al.* (2009), atribuyen a los caracteres anatómicos una gran

importancia para estudios taxonómicos y evolutivos de Myrtaceae y Myrtales; no obstante plantean que pocos representantes de la flora tropical han sido incluidos en éstos análisis, principalmente los de la tribu Myrteae.

Según Motta *et al.*, (2009), el evidente desarrollo de la filogenia molecular, particularmente los estudios conducidos a principio de la década de los noventa basados en secuencias de ácidos nucleicos, ha provocado un decrecimiento en número e importancia de las investigaciones basadas en evidencias quimiotaxonómicas.

En ciertas familias como las Malpighiaceae, se han conducido investigaciones considerando aspectos fitoquímicos para dilucidar las relaciones fenéticas entre sus miembros. Así en *Camarea*, un género endémico de Suramérica, se realizó un análisis mediante la determinación de flavonoides en hojas con la finalidad de indagar su potencial como herramienta taxonómica, analizando patrones de flavonoides foliares entre especies y comparando los resultados con otros tipos de evidencias tales como morfológicas y la distribución de *n*-alcanos. Entre los hallazgos más importantes se determinó la sinonimia entre dos especies de *Camarea*, y el fenograma generado arrojó la formación de tres grupos de especies afines (Motta *et al.*, 2009).

Asimismo, en el género *Hypericum* (Clusiaceae) los flavonoides son unos importantes marcadores químicos y representan una excelente herramienta quimiotaxonómica (Nahrstedt y Butterweck, 1997).

Con respecto a las Mirtáceas son pocas las investigaciones realizadas tomando en cuenta características fitoquímicas para fines taxonómicos. En este sentido Gardeli *et al.*, (2008) refieren que especies como *Myrtus communis*, a pesar de ser fuente de antioxidantes y saborizantes, no ha recibido la merecida atención, mientras que en otras, como ciertas hierbas y especias con aceites esenciales, se han ido incrementando por poseer dichas propiedades.

Cole *et al.*, (2007) en el género *Eugenia* condujeron un estudio con la finalidad de contribuir a esclarecer las relaciones filogenéticas entre especies estrechamente relacionadas. Se compararon siete especies determinando similitudes y diferencias en cuanto a compuestos químicos volátiles los cuales se obtuvieron por hidrodestilación y se analizaron por cromatografía de gases y espectrofotometría de masa. Los resultados determinaron que todas las especies presentaron predominancia de uno de los compuestos, así como también se detectó que hubo seis componentes que se presentaron en todas las especies. Se concluyó que las diferencias observadas en cuanto a la presencia de estos compuestos entre las especies de *Eugenia* pudieran aportar caracteres útiles para el entendimiento de las relaciones filogenéticas.

En *Psidium* y sobre todo en *P. guajava* la mayor atención se ha centrado en indagar la relación de su composición química con propiedades medicinales. Pérez *et al.*, (2008), realizaron una completa revisión en esta especie en donde se resume que posee alta producción de metabolitos secundarios, algunos con una actividad biológica útil atribuida principalmente a compuestos fenólicos, flavonoides, carotenoides, terpenoides y triterpenos.

Lapčík *et al.*, (2005), en *P. guajava* y *P. littorale* identificaron una gama de isoflavones debido a su importancia para la salud humana. Los resultados determinaron la presencia de agliconas y glicósidos y concluyeron que la ruta metabólica de estos compuestos está presente en la familia Myrtaceae.

Considerando lo planteado y dada la escasa información fitoquímica disponible para este género, la presente investigación tuvo como objetivo determinar los principales flavonoides presentes en seis especies de *Psidium* reportadas para Venezuela, con la finalidad de obtener datos útiles que permitan esclarecer, junto a otras fuentes de información, las relaciones taxonómicas dentro del mismo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de muestras

Se seleccionaron hojas completamente sanas y maduras de las diferentes especies de *Psidium* tanto de recolectas recientes como de material herborizado. En las salidas de campo, el recorrido se trazó revisando ejemplares de herbario y literatura especializada; se visitaron diversas localidades de los estados Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia, las cuales son entidades del occidente venezolano que poseen una alta representatividad de especies de éste género de las Mirtáceas (Hokche *et al.*,2008). Se extrajeron hojas de uno o de hasta cuatro individuos por especie, dependiendo de la disponibilidad en el sitio de recolección.

Con la finalidad de establecer comparaciones con otras especies de *Psidium* provenientes de diferentes estados del país, se incorporaron también muestras foliares extraídas de especímenes herborizados solicitados en calidad de préstamo a las siguientes instituciones: Herbario Nacional de Venezuela (VEN), Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela “Víctor M. Badillo” (MY), Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (MER) y el Herbario de la Universidad del Zulia “Omar Zambrano C.” (HERZU). El número de repeticiones varió de 2 a 4 ejemplares por especie, dependiendo de la disponibilidad y considerando muestras completas y en buen estado.

Con la finalidad de comparar grupos afines a *Psidium*, se incluyó también en el análisis a la especie *Calycolpus moritzianus*, cuyas muestras se recolectaron en los estados Mérida y Táchira, donde comparte hábitat con algunas especies de *Psidium*. A continuación se presenta un listado de las especies analizadas y su respectiva procedencia (Cuadro 1).

Cuadro 1. Ejemplares examinados en el análisis de los flavonoides y su procedencia.

EJEMPLAR EXAMINADO	ORÍGEN
<i>Calycolpus moritzianus</i> (O.Berg) Burret. Muestra fresca	Carretera Mesa de Aura-Cordero, Táchira. 1785 msnm; 07° 56'06" LN, 72° 07'05" LO. HERZU: 3352.
<i>C. moritzianus</i> . (Especímen herborizado)	Parque "La Mucuy", Municipio Santos Marquina, Mérida. 1800 1800 msnm. HERZU: 3000 - 74.
<i>Psidium acutangulum</i> DC. (Especímen herborizado)	Municipio Pedro Camejo, Apure. MY-200.
<i>P. acutangulum</i> . (Especímen herborizado)	Municipio Sucre, Bolívar. 45 msnm, 07° 11'50" LN, 65° 12'30" LO. MY-967
<i>P. acutangulum</i> . (Especímen herborizado)	Puerto Sipapo, Amazonas. 4° 54' - 5° 3' LN, 67° 34' - 67° 46' LO. MY- 3749.
<i>P. acutangulum</i> . (Especímen herborizado)	Nor-oeste de San Carlos, Cojedes. MY-666
<i>Psidium guajava</i> L. Muestra fresca	Carretera La Fría-Seboruco, Táchira. 560 msnm, 08°09'27" LN, 072° 08'25" LO. HERZU: 3342.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Churugarita, Sector San José, Zulia. 190 msnm, 10° 26' 02" LN, 070° 57' 59" LO. HERZU: 3370.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Carretera vía a La Ceiba, Municipio Sucre, Km 23, Trujillo. 09° 28' 22" LN, 070° 53' 37" LO. HERZU:3391.
<i>Psidium guajava</i> . (Especímen herborizado)	Parque nacional Quebrada de la Cueva, El Toro, Falcón. 600 msnm, 10° 50' LN, 69° 07' LO. VEN-7772.
<i>Psidium guajava</i> . (Especímen herborizado)	Carretera Maracay-Choroní, vertiente sur, Aragua. 700-750 msnm. MY-3735.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Mérida. 1880 msnm, 8° 35' 50" LN, 71° 13' 20" LO. HERZU: 3330.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Sector "El Salado Alto", Municipio Campo Elías, Mérida. 1610 msnm, 08° 35' 27" LN, 71° 13' 40" LO. HERZU: 3318
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Sector La Raya, carretera La Raya-Agua Viva, Trujillo. 09° 49' 32 " LN, 70° 52' 28" LO. HERZU: 3387.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Carretera La Grita- El Cobre, Táchira. 1150 msnm, 08° 08' 03" LN, 072° 01' 33" LO. HERZU: 3350.

<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Sector Pan de azúcar, Táchira. 1430 msnm, 07° 51' 54" LN, 72° 09' 08" LO. HERZU: 3354.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Mcpio. Santos Marquina, carretera Los Aleros-San Rafael de Tabay, Mérida. 1750 msnm, 08° 38' 34" LN, 71° 02' 33" LO. HERZU: 3317.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Mérida. 310 msnm, 09° 22' 31" LN, 070° 35' 44" LO. HERZU: 3313.
<i>Psidium guajava</i> . (Especímen herborizado)	Municipio Jiménez, Paso de Angostura, Represa de Yacambú, Lara. 500 msnm, 9° 41' LN, 69° 3' LO. VEN-107683.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Sabana de Mendoza, vía El Cenizo, Trujillo. 68 msnm, 09° 26' 55" LN, 70° 47' 37" LO. HERZU: 3390.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Carretera Agua Santa-La Tabla, Zulia. 110 msnm, 10°24'32" LN, 71°07'49" LO. HERZU: 3360.
<i>Psidium guineense</i> Sw. Muestra fresca	Finca "Los Santos", vía hacia Churugarita, Zulia. 180 msnm, 10° 26' 04" LN, 71° 00' 31" LO. HERZU: 3339.
<i>P. guineense</i> . Muestra fresca	Los Chorros de Milla, Mérida. 1600 msnm, 08° 37' 10" LN, 071° 08' 21" LO. HERZU: 3339.
<i>P. guineense</i> . (Especímen herborizado)	Puerto Ordaz, Cerro Bolívar, Bolívar. 300 a 350 msnm. VEN-36006
<i>P. guineense</i> . (Especímen herborizado)	San Antonio de los Altos, Miranda. MER-1
<i>P. guineense</i> . Muestra fresca	Carretera Churugarita-El pensado, Zulia. 170 msnm, 10° 26' 10" LN, 071° 00' 39" LO. HERZU: 3383.
<i>P. guineense</i> . Muestra fresca	Carretera Michelena-Colón, Táchira. 1090 msnm, 07° 59' 29" LN, 72° 14' 40" LO. HERZU: 3359.
<i>P. guineense</i> . (Especímen herborizado)	Portuguesa. MY-3934.
<i>P. guineense</i> . (Especímen herborizado)	11 km al norte de Jusepin. Monagas. 250 msnm. VEN-8615
<i>P. guineense</i> . Muestra fresca	Carretera Agua Viva-Agua Santa, Trujillo. 09°31'05"LN, 70°40'16" LO. HERZU: 3388.
<i>P. guineense</i> . Muestra fresca	Carretera El Pensado- Churugarita, Zulia. 140 msnm, 10° 28' 21" LN, 071° 02' 36" LO. HERZU: 3365.
<i>P. guineense</i> . (Especímen herborizado)	Cerro Pintao, Departamento Atures, Amazonas. MY-3500
<i>Psidium maribense</i> DC.	Río Orituco, Guárico. VEN-709

<i>P. maribense</i> . (Especímen herborizado)	Distrito Pedro Camejo, Apure. 67° 39'LO, 7° 2'LN. VEN-12862.
<i>Psidium salutare</i> (Kunth) O. Berg.	Departamento Atures, al noreste de Puerto Ayacucho, Amazonas. VEN-13756.
<i>P. salutare</i> (Kunth). (Especímen herborizado)	Cerro La Antena, Cojedes. 50-100 msnm. VEN-14552.
<i>P. salutare</i> . (Especímen herborizado)	Estación Biológica de los llanos de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales, 12 km al sureste de Calabozo, Guárico. 75 msnm, 8° 56'LN, 67° 25'LO. MY-2183.
<i>Psidium sartorianum</i> (O. Berg) Nied. (Especímen herborizado)	Jardín Botánico UCV-Agronomía, municipio Girardot, Aragua. 500 msnm. MER-2.
<i>P. sartorianum</i> . (Especímen herborizado)	Sur de Mochima, a 20 km al suroeste de Cumaná, Sucre. 250 msnm. VEN-108734.

Hidrólisis de flavonoides

La hidrólisis se realizó por duplicado siguiendo el procedimiento descrito por Vargas-Alvarez, *et. al.* (2006). A 0,25 g de muestra de hojas de guayaba se le agregaron 25 mL de una solución de HCl 1,2M en metanol al 50% v/v, esta solución se llevó a reflujo por 2 h a 95 °C. Posteriormente, los extractos se filtraron por gravedad (Whatman N° 1). Seguidamente, se tomó una alícuota del extracto (150 µL) y se diluyó en H₂O acidulada a pH 2,5 (600 µL). Para el análisis por HPLC, se inyectaron por duplicado 20 µL de cada extracto. En el caso del material de colectas recientes, las hojas fueron previamente secadas a temperatura ambiente.

Determinación de flavonoides por HPLC

La separación cromatográfica de los flavonoides miricetina, luteonina, quercetina, apigenina y kaempferol, se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa, empleando una columna de C18 (Zorbax) de 4,6mm x 250mm x 5µm y como fase móvil KH₂PO₄/ACN (66,7:33,3%v/v) a 1,0 mL.min⁻¹. La detección se realizó en la región UV-visible a 280 nm.

Se obtuvieron tiempos de retención menores a los 30 min: miricetina (9 min), luteonina (16 min), quercetina (18 min), apigenina (24 min) y kaempferol (29 min).

La cuantificación de los flavonoides se realizó por estándar externo, considerando el área de pico como parámetro analítico. Para ello se preparó una curva de calibración (2,5 - 10 mg.L⁻¹) a partir de las soluciones estándares de cada flavonoide: miricetina (Sigma, 85% de pureza) 172 mg.L⁻¹, luteonina (Sigma, 98% de pureza) 1043.8 mg.L⁻¹, quercetina (Sigma, 98% de pureza) 1190 mg.L⁻¹, apigenina (Sigma, 95% de pureza) 969 mg.L⁻¹, y kaempferol (Sigma, 90% de pureza) 709.2 mg.L⁻¹.

Análisis estadístico

La información obtenida se reunió en una matriz de datos elaborada con el programa Microsoft Windows Excel 2007, y posteriormente se analizó a través de técnicas multivariadas, usando el programa SAS 9.1.3., aplicando el procedimiento Cluster (Análisis del conglomerado de la varianza mínima de Ward), con la finalidad de determinar el agrupamiento de los diferentes ejemplares de *Psidium* y *C. moritzianus* según las similitudes y diferencias derivadas de la presencia de flavonoides. Complementariamente, para explicar el patrón de agrupamiento generado se aplicó un Análisis de Componentes Principales (ACP).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se presentan los resultados del análisis cluster donde se observa la formación de los diferentes grupos de acuerdo a la presencia y concentración de los flavonoides en los taxa analizados, mientras que con el de componentes principales (ACP) se analizaron las variables más determinantes de este agrupamiento.

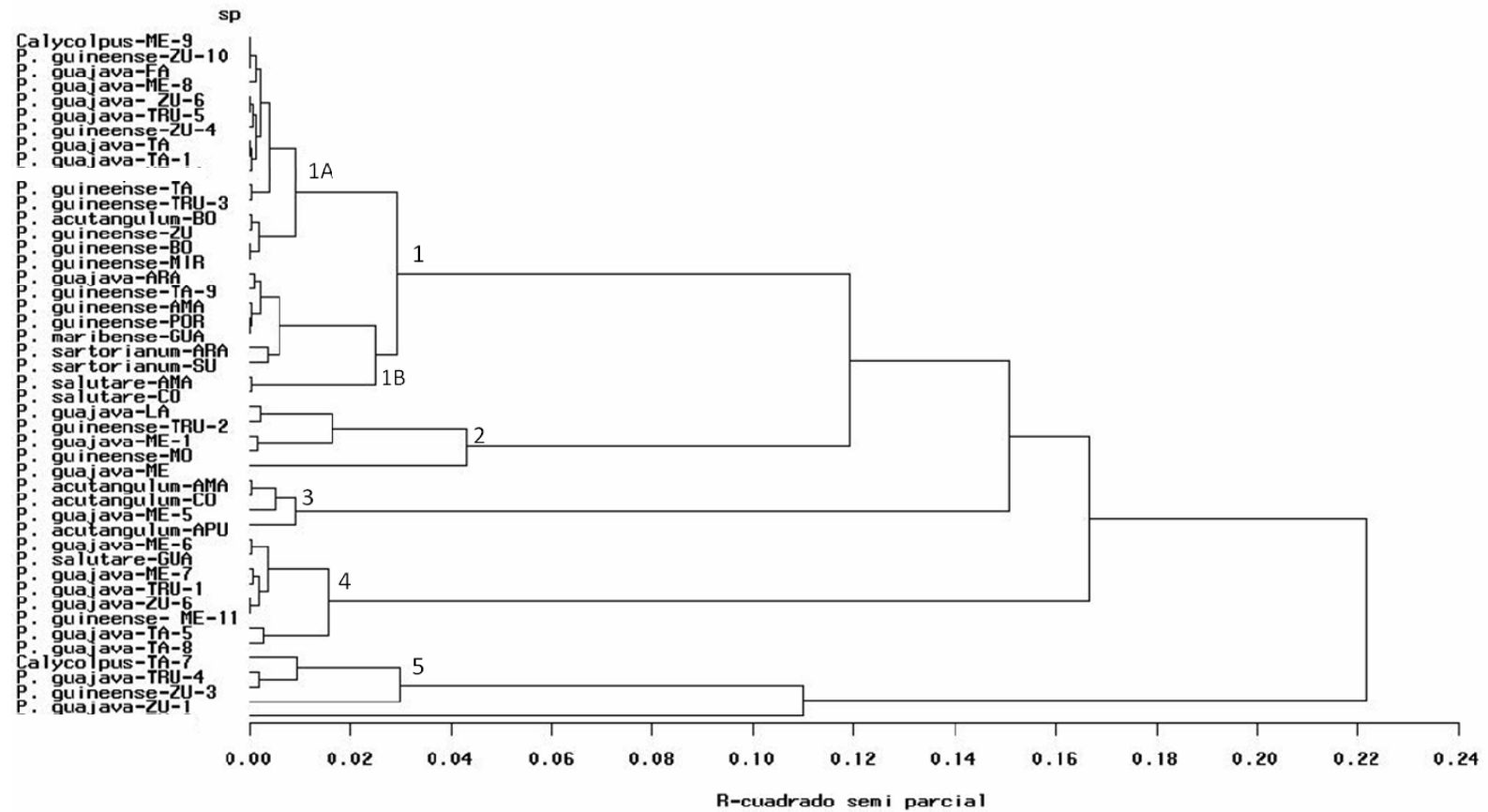


Figura 1. Dendrograma resultante del análisis de conglomerado de la varianza mínima de Ward aplicado a especies de *Psidium*.

Análisis cluster

En el dendograma (Figura 1) se pudo distinguir la formación de 5 grupos:

Grupo 1. Conformado por 24 individuos, donde se observó a su vez, la formación de dos agrupamientos: subgrupo 1A, constituido por 15 ejemplares pertenecientes a las especies *Calycolpus moritzianus*, *Psidium acutangulum*, *P. guajava* y *P. guineense*, recolectados en diversas localidades de los estados Bolívar, Falcón, Mérida, Miranda, Táchira, Trujillo y Zulia; subgrupo 1B, donde se agruparon 9 ejemplares de *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare* y *P. sartorianum*, provenientes de Amazonas, Aragua, Cojedes, Guárico, Portuguesa, Sucre y Táchira.

Grupo 2. Integrado por 5 ejemplares de *P. guajava* y *P. guineense*, provenientes de los estados Lara, Mérida, Monagas y Trujillo.

Grupo 3. Constituido por 4 ejemplares de *P. guajava* y *P. acutangulum* de los estados Amazonas, Apure, Cojedes y Mérida.

Grupo 4. Formado por 8 ejemplares de las especies *P. guajava*, *P. guineense* y *P. salutare*, provenientes de Guárico, Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia.

Grupo 5. Conformado por 4 ejemplares de las especies *Calycolpus moritzianus*, *P. guajava* y *P. guineense*, de los estados Zulia y Táchira.

Análisis de componentes principales

Como se observa en el Cuadro 2, la sumatoria de los dos primeros componentes, explicaron el 56% de la variación observada con relación a los flavonoides presentes en las distintas especies analizadas, y en conjunto a CP3 totaliza más del 75% de la misma. El primer componente principal (CP1) explicó el 32,3% de la variabilidad, el segundo (CP2) un 23,7% y el tercero (CP3) un 19,3%.

Cuadro 2. Valores propios y proporción de la varianza para los cinco componentes principales con relación a flavonoides presentes en *Psidium*.

Componente		Proporción de la varianza	
Principal	Valores propios	Propia	Acumulada
CP1	1,6148	0,3230	0,3230
CP2	1,1853	0,2371	0,5600
CP3	0,9664	0,1933	0,7533
CP4	0,8181	0,1636	0,9169
CP5	0,4155	0,0831	1,0000

De la correlación de cada variable original con los componentes principales, se observó que los flavonoides que ejercieron un mayor aporte a la variabilidad dentro de los tres primeros componentes fueron: luteonina y kaempferol en el CP1; quercetina y miricetina para el CP2; apigenina y miricetina en el CP3 (Cuadro 3).

Cuadro 3. Vectores propios para los cinco componentes principales (CP) con relación a flavonoides presentes en *Psidium*.

Variable (Flavonoide)	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
miricetina	-0,1452	0,5805	-0,5290	0,6015	0,0168
luteonina	0,6940	0,0802	-0,0001	0,0701	0,7121
quercetina	-0,0444	-0,7024	0,0470	0,7069	0,0529
apigenina	-0,1738	0,3925	0,8408	0,3160	0,0942
kaempferol	0,6820	0,0962	0,1049	0,1834	-0,6935

Los números resaltados con negrillas corresponden a los valores más altos en los tres primeros componentes

Tomando en consideración los agrupamientos formados en el análisis cluster, en la figura 2 se evidencia que el CP1 separa claramente al grupo 5 de los restantes; este grupo 5 lo conformaron las especies *Calycolpus moritzianus*, *P. guajava* y *P. guineense*.

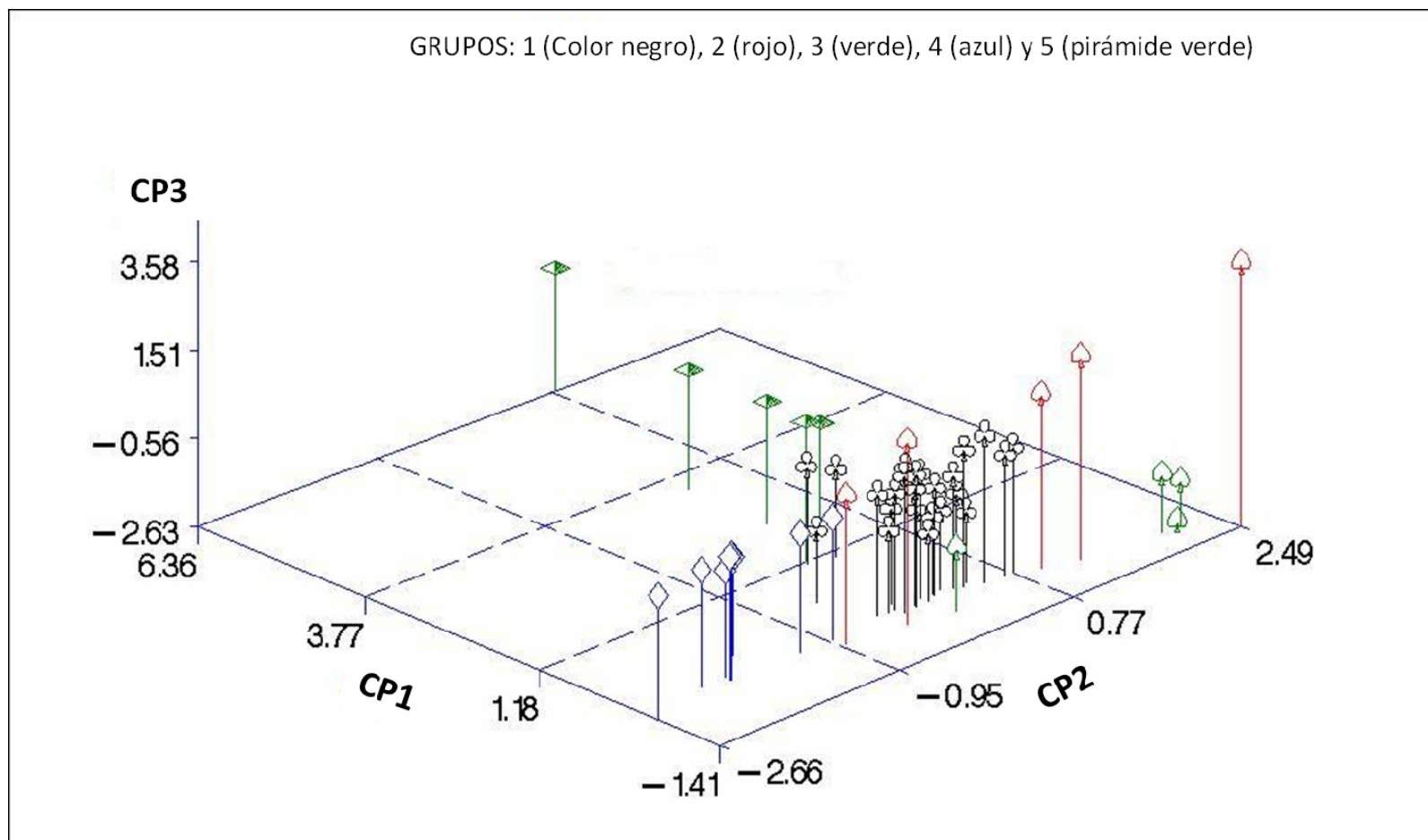


Figura 2. Ordenación de los componentes principales generada por la presencia y concentración de flavonoides en especies de *Psidium*.

El CP2 separa al grupo 4, constituido por las especies *P. guajava*, *P. guineense* y *P. salutare*. Considerando este mismo componente, en la figura 2 se observa a los grupos 1 y 2 muy próximos al grupo 3, el cual lo conformaron los taxa *P. guajava* y *P. acutangulum*.

Es importante mencionar, que la separación del grupo 5 con respecto al resto, estuvo determinada por la presencia del flavonoide kaempferol, y por presentar una mayor concentración de luteonina. La luteonina no se encontró en los grupos 3 y 4, mientras que en los agrupamientos 1 y 2, las concentraciones promedios fueron muy inferiores a las del grupo 5 (Cuadro 4). Es de destacar la elevada variación para la concentración de este flavonoide dentro del grupo 5, lo que debe ser la causa de la elevada heterogeneidad de este grupo, como se evidencia en las figuras 1 y 2.

Cuadro 4. Promedio y desviación estándar de las concentraciones de flavonoides (g.100g⁻¹) presentes en los grupos generados por el análisis Cluster correspondientes a especies de *Psidium*.

Cluster/flavonoide	luteonina	kaempferol	miricetina	quercetina	apigenina
Grupo 1	0,012±0,028	0	0,042±0,03	0,032±0,04	0,014±0,015
Grupo 2	0,004±0,009	0	0,015±0,013	0,32±0,106	0,011±0,007
Grupo 3	0	0	0,276±0,05	0,09±0,127	0,021±0,016
Grupo 4	0	0	0,045±0,042	0,102±0,115	0,08±0,047
Grupo 5	0,096±0,122	0,028±0,011	0,043±0,009	0,092±0,030	0,022±0,009

Con respecto al hecho de que no se detectara luteonina en los grupos mencionados, Izco (1997) establece que la presencia de un carácter químico tiene más valor que la ausencia, razón por la cual se debe considerar la posibilidad de que los flavonoides analizados se localicen en órganos distintos a los revisados, en órganos reproductivos por ejemplo, que tenga lugar en fases distintas al ciclo

vital, que haya variación estacional o diaria en su producción, así como la posibilidad de destrucción del compuesto durante las fases previas a su identificación o durante su extracción. Apoyando esta aseveración, Vargas *et al.*, (2006), determinaron luteonina y kaempferol en frutos de *P. guajava* cuando evaluaron diferentes órganos para la detección de flavonoles y flavonas.

La miricetina fue uno de los flavonoides que aportó mayor variabilidad para el agrupamiento observado en el CP2; en el cuadro 3 se puede distinguir que los grupos 1, 4 y 5 presentaron concentraciones promedio similares ($0,042\text{--}0,045\text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$), mientras que los grupos 2 y 3 obtuvieron los valores más bajo y más alto, respectivamente ($0,015$ y $0,276\text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$); esto se puede evidenciar en la figura 2, donde se observa el distanciamiento de los dos últimos grupos a los que se hace mención.

Vargas *et al.*, (2006), cuando analizaron los contenidos de miricetina en los diferentes órganos de *P. guajava* determinaron que la mayor concentración se localizaba en la corteza, y en segundo lugar en las hojas. En este sentido Dinelli *et al.* (2006) establecieron que la concentración de flavonoides varía de planta a planta, incluso en diferentes órganos de una misma planta.

Con relación a lo anterior, es de interés recordar que en esta investigación se emplearon hojas maduras de las especies analizadas, tomando como referencia resultados de ciertas investigaciones como las de Sultana y Anward (2008), quienes compararon el contenido de flavonoides en corteza, hojas y frutos de plantas medicinales, entre estas *Eugenia jambolana* (Myrtaceae), determinando que las hojas y los frutos presentaron mayor contenido de estos compuestos, lo cual coincidió con reportes previos. Silva *et al.* (2006) establecieron que las hojas poseen alta concentración de fitoquímicos (tales como flavonoides y ácidos fenólicos) ya que la reacción de la fotosíntesis se lleva a cabo principalmente en estos órganos.

Al comparar en el cuadro 4 los flavonoides en las especies analizadas, es evidente que miricetina fue el flavonoide que estuvo presente en todos los ejemplares; luteonina no se detectó en *P. acutangulum* y *P. maribense*, mientras que kaempferol no se determinó en estas dos especies, así como tampoco en *P. salutare*, ni en *P. sartorianum*.

En la investigación de Sultana y Anward (2008), no se detectó miricetina en la corteza de *E. jambolana*, permitiéndose la comparación aún cuando se trata de otro género de Myrtaceae y de haberse analizado un órgano diferente; en este trabajo también se evaluó el contenido de flavonoides de especies frutales (*Malus pumila*, *Prunus salicin*, *Prunus armeniaca*, *Fragaria ananassa* y *Morus alba*). Entre los resultados más relevantes se determinó que el kaempferol estuvo presente en todas las especies analizadas, encontrándose la mayor concentración en *M. alba* (284,3 mg kg⁻¹), y la menor en *P. salicin* (0,7 mg kg⁻¹). Con respecto a la miricetina, ésta sólo se detectó en *F. ananassa* y *P. salicin*, siendo significativamente mayor la concentración ($P < 0,05$) en la primera especie con respecto a la segunda (3382,9 mg kg⁻¹ y 564,1 mg kg⁻¹, respectivamente). La ausencia de este flavonoide en *Malus pumila* y en *Prunus armeniaca*, coincidió con investigaciones previas realizadas en las mismas especies.

En el género *Camarea* (Malpighiaceae) cuando se compararon diferentes especies, el glicósido más frecuente fue kaempferol 3-O-galactósido, no detectándose sólo en *Camarea elongata* y *Camarea ericoides* (Motta *et al.*, 2009).

En el cuadro 5 se puede evidenciar, que los ejemplares correspondientes a las especies *P. guajava* y *P. guineense* no presentaron uniformidad en cuanto a la presencia de los flavonoides analizados; así por ejemplo, en *P. guajava*, el 31% de los ejemplares presentaron luteonina y sólo el 13% kaempferol. A este respecto, es importante recordar que los mismos se recolectaron en diversas localidades del territorio nacional, pudiendo representar la ubicación geográfica un factor de variación. En este sentido Vargas *et al.*, (2006), acotaron que los resultados pueden presentar variaciones dependiendo del material genético y de las condiciones donde crecen las plantas.

Cuadro 5. Presencia de flavonoides en las especies analizadas considerando el número de ejemplares examinados.

Espece	Flavonoides presentes: kaempferol=KA; luteonina=LU; miricetina=MI	Porcentaje de ejemplares examinados que presentaron estos flavonoides
<i>Calycolpus moritzianus</i>	KA, LU, MI	100%
<i>Psidium acutangulum</i>	MI	100%
<i>Psidium guajava</i>	KA, LU, MI	KA (13%), LU (31%), MI (100%)
<i>Psidium guineense</i>	KA, LU, MI	KA (8%), LU (8%), MI (100%)
<i>Psidium maribense</i>	MI	100%
<i>Psidium salutare</i>	LU, MI	100%
<i>Psidium sartorianum</i>	LU, MI	100%

Así mismo, Gardeli *et al.*, (2008), en un estudio fitoquímico demostraron que el perfil de los aceites esenciales obtenidos en *Myrtus communis* (Myrtaceae) difirieron de acuerdo al origen, así como se encontraron diferencias cuantitativas de los componentes individuales presentes, relacionando estas diferencias con la localización geográfica y por la existencia de quimiotipos; refieren que la variación estacional y los factores ambientales tales como temperatura, longitud del día, nutrientes, entre otros, juegan un rol importante en su composición química. Estos factores influyen sobre el patrón biosintético de las plantas y consecuentemente sobre la proporción relativa de los principales compuestos característicos.

En contraposición, se ha referido que los flavonoides son frecuentemente utilizados en quimiotaxonomía, ya que constituyen excelentes marcadores químicos entre los compuestos metabólicos de las plantas. Se recomienda ampliamente su uso considerando que sus patrones tienden a ser específicos, son relativamente estables y su biosíntesis/acumulación es independiente de la influencia ambiental (Markham, 1989). También se ha establecido que la composición de los flavonoides es principalmente determinada por factores genéticos y muchas de las referencias coinciden en que los factores no genéticos (condiciones ambientales, prácticas culturales, etc.) tienen un gran efecto sobre su concentración, más que con su composición relativa (Arozarena *et al.* 2002).

CONCLUSIONES

Los flavonoides que permitieron agrupar a las distintas especies de *Psidium* y a *Calycolpus moritzianus* fueron principalmente: kaempferol, luteonina y miricetina, dicho arreglo varió considerando la presencia y concentración de los mismos. En *P. guajava* y *P. guineense* no se obtuvieron resultados consistentes con relación a la presencia de estos flavonoides, lo cual pudo deberse a la alta diversidad de orígenes de las muestras. Estos resultados se deben complementar con otras fuentes de información para contribuir a establecer los límites taxonómicos del género. En próximas investigaciones se recomienda la incorporación de especies de *Psidium* procedentes de condiciones geográficas similares a fin de disminuir la posible variación derivada de la influencia de este factor.

LITERATURA CITADA

- Albornoz A. 1980. Productos naturales, sustancias y drogas extraídas de las plantas. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 616 p.
- Arozarena I., B. Ayestarán, M. Cantalejo, M. Navarro, M. Vera e I. Abril. 2002. Anthocyanin composition of Tempranillo, Garnacha and Cabernet Sauvignon grapes from high- and low-quality vineyards over two years. *European Food Research and Technology*. 214: 303–309.
- Bruce, H., L. Landrum y F. Grifo. 2003. Myrtaceae-Plumbaginaceae. 1-99 pp. En: *Flora of the Venezuelan Guayana*. Berry, P., B. Holst, y K. Yatskievych (Eds.). Missouri Botanical Garden Press., Oregon. Vol. 7.
- Cole R., W. Haber y W. Setzer. 2007. Chemical composition of essential oil of seven species of *Eugenia* from Monteverde, Costa Rica. *Biochemical Systematics and Ecology*. 35: 877-886.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564-82.
- Dinelli, G., A. Bonetti, M. Minelli, I. Marotti, P. Catizone y A. Mazzanti. 2006. Content of flavonols in Italian bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ecotypes. *Food Chemistry*. 90:105–114.
- Gardeli C., P. Vassiliki, M. Athanasios, T. Kibouris y K. Michael. 2008. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*. 107: 1120-1130.
- Gomes, S., N. Somavilla, K. Gomes-Bezerra, S. do Couto, P. De-Carvalho y D. Graciano-Ribeiro. 2009. Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomía e filogenia. *Acta Botanica Brasilica*. 23: 223-238.

Hokche O, P. Berry y O. Hubber. 2008. Nuevo Catálogo de la Flora Vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. 859 p.

Izco, J. 1997. Botánica. McGraw Hill Interamericana de España, Madrid. 781 pp.

Lapčák, O., B. Klejdus, L. Kokoška, M. Davidová, K. Afandi, V. Kubáň y R. Hampl. 2005. Identification of isoflavones in *Acca selowiana* y two species de *Psidium*. Biochemical Systematics and Ecology. 33: 983-992.

Lucas, E., S. Belsham, E. Nic Lughadha, D. Orlovich, C. Sakuragui, M. Chase y P. Wilson. 2005. Phylogenetic patterns in the fleshy-fruited Myrtaceae- preliminary molecular evidence. Plant Systematics and Evolution. 251: 35-51.

Marcano D. y M. Hasegawa. 2002. Fitoquímica orgánica. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico Universidad Central de Venezuela. 588 p.

Markham, K. R. 1989. Flavonas, flavonols and their glycosides. In Methods in plant biochemistry. Plant phenolics. 1:197–235, London, UK: Academic Press Ltd.

Motta L., C. Furlan, A. Salatino y M. Salatino. 2009. Flavonoids and the taxonomy of Camarea (Malpighiaceae). Biochemical Systematics and Ecology. 37: 201–205.

Nahrstedt A. y V. Butterweck. 1997. Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. Pharmacopsychiatry. 30 (Suppl.):129-134.

Pérez R., S. Mitchell y R. Vargas. 2008. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. Journal of Ethnopharmacology. 117: 1-27.

Sánchez-Vindas, E. 1990. Flora de Veracruz. Fascículo 62 (Myrtaceae). Instituto de Ecología, A.C. Xalapa. México y University of California Riverside, California. EEUU. 146 p.

SAS Institute, Inc. 2008. SAS user's guide: Statistics. Versión 9.1.3., SAS Inst., Inc. NC, USA.

Silva E., J. Souza, H. Rogez, J. Rees y Y. Larondella. 2006. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*. 101: 1012–1018.

Sultana B. y F. Anwar. 2008. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chemistry*. 108: 879–884.

Vargas-Álvarez D., M. Soto, V. González, E. Engleman y A. Martínez. 2006. Cinética de acumulación y distribución de flavonoides en guayaba (*Psidium guajava* L.). *Agrociencia*. 40: 109-115.

Wilson P, O'Brien M, Gadek P y Quinn C. 2001. Myrtaceae revisited: A reassessment of infrafamilial groups. *American Journal of Botany*. 88: 2013-2025.

CAPÍTULO V

Análisis fenético de especies de *Psidium*
presentes en Venezuela

RESUMEN

Psidium es considerado dentro de la familia Myrtaceae un taxa en el cual ha sido difícil precisar límites genéricos. Ello demanda la conducción de investigaciones donde se combinen diversas fuentes de información que contribuyan a esclarecer las relaciones sistemáticas entre sus integrantes. La fenética ha sido propuesta como una teoría de clasificación basada en la semejanza global o total de los organismos, en función de los caracteres utilizados. El objetivo principal de esta investigación fue determinar el grado de similitud morfológica, anatómica y fitoquímica entre especies de *Psidium* y de estas con *Calycolpus moritzianus*, permitiendo establecer algunos límites taxonómicos entre las mismas. Se incluyeron 44 individuos de las especies *Psidium acutangulum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianu*, y *C. moritzianus*, analizándose 49 variables correspondientes a 15 morfológicas, 29 anatómicas y 5 fitoquímicas. Los datos se procesaron mediante Análisis de Conglomerados (Cluster) y Análisis de Componentes Principales (ACP); para las variables cualitativas se utilizó un análisis de frecuencia. Con el análisis Cluster se obtuvieron tres grupos conformados por las especies analizadas, mientras que el ACP seleccionó trece del total de las variables cuantitativas para explicar dicho arreglo. Con respecto a las variables cualitativas, el análisis de frecuencia arrojó entre las más determinantes: número de pares de nervaduras, tipo de inflorescencia, número de estratos sub-epidérmicos, grado de diferenciación del parénquima esponjoso, entre otras. Las variables seleccionadas se consideraron para describir a las especies analizadas, contribuyendo a determinar el grado de similitud y disimilitud morfológica, anatómica y fitoquímica entre las mismas.

Phenetic analysis of the species of *Psidium* present in Venezuela

ABSTRACT

Psidium has been, within Myrtaceae family, a genus with difficulties in the limits among the species. This situation demands the need for researching using different kinds of information that will be also usefull in solving the systematic relationships among its members. Phenetic or Numerical classification approach has been used to order taxa based on global or total similarity among organisms according to the characters used in the study. The main objective of the present study was to determine the degree of similarity, using morphological, anatomical and phytochemical characters, among several species of *Psidium* and *Calycolpus moritzianus*, furthermore this study will help to delimit the taxonomy of the species. The research included 44 individuals of *Psidium guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. sartorianum*, *P. acutangulum*, *P. salutare* y *C. moritzianus*. The analysis included 49 variables, of which 15 were morphological, 29 anatomical and 5 phytochemical. The data matrix was processed using Cluster Analysis (CA) and Principal Components Data Analysis (PCA); for the qualitative variables a frequency analysis was used. The results showed that 3 groups of species were formed using CA, whereas the ACP selected 13 of the total number of quantitative characters to explain this arrangement. In relation with the qualitative variables the frequency analysis showed that the most determinant ones were: number of paired nerves, type of inflorescence, number of subepidermal strata, degree of the spongy parenchyma differentiation. The variables selected were considered for describing the species studied, which contributed at the same time to determined the degree of morphological, anatomical and phytochemical similarity among the species.

INTRODUCCIÓN

La familia Myrtaceae incluye aproximadamente 133 géneros (Wilson *et al.*, 2001), de los cuales 19 se reportan para Venezuela. Uno de los géneros mejor representado en el país es *Psidium*, con 13 especies ampliamente distribuidas (Hokche *et al.*, 2008), siendo *P. guineense* Sw. y *P. guajava* L. las que se encuentran en un mayor número de estados (19 y 13, respectivamente), seguidas por *P. salutare*, *P. sartorianum* y *P. acutangulum* (Hokche *et al.*, 2008). En el occidente venezolano, en el cual se ubican los estados Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia, se ha mencionado la presencia de *P. guineense*, *P. guajava*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *P. friedrichsthalianum* (Pacheco *et al.*, 2011).

Psidium es considerado dentro de la familia Myrtaceae un taxa en el cual ha sido difícil precisar sus límites genéricos, desconociéndose con exactitud el número de especies dentro del mismo (Landrum, 2003). Se han generado divergencias taxonómicas derivadas de la existencia de tipos morfológicos muy semejantes entre sí, y que corresponden a especies distintas, así como de diversos fenotipos que a la larga pueden representar una misma entidad genética, derivado de la gran plasticidad que demuestran en diversos ambientes. *Psidium guajava* L. (“guayaba”), es una de las plantas cultivadas más conocidas en muchas regiones secas del mundo por su alto potencial frutícola, y ha sido naturalizada mucho más allá de su distribución original, el cual fue presumiblemente América tropical, mientras que *P. guineense* es considerada la especie más dispersada y taxonómicamente más compleja del género (Mc Vaugh, 1968).

Lo expuesto ha demandado la conducción de investigaciones tendientes a dilucidar la posición taxonómica de *Psidium* dentro de la familia Myrtaceae, que combinen diversas fuentes de información, justificada en la gran diversidad de especies presentes en Venezuela y en general, en otros países tropicales. Esto permitiría también ampliar el estudio de otras especies de este género, diferentes a *P. guajava*, como recursos potenciales para la producción comercial.

En familias botánicas como en las Lamiaceae (Silva *et al.*, 2011) y Palmae (Henderson, 2004) se han conducido investigaciones para esclarecer relaciones sistemáticas entre sus integrantes, combinando datos morfológicos, anatómicos y de distribución geográfica, mediante análisis multivariados, a fin de aplicar un tratamiento taxonómico integral, lo cual se ha comparado con análisis individuales que consideran una sola fuente de información, determinando que estos últimos sólo dan resoluciones limitadas.

Pocos representantes de Mirtáceas neotropicales han sido considerados en análisis taxonómicos completos en comparación con taxas de otras latitudes; así Wilson *et al.* (2001), a través de una investigación integral consideraron caracteres morfológicos, secuencias moleculares y su integración para definir las relaciones entre taxones de Mirtáceas; no obstante, en este trabajo solo se incluyeron algunos géneros americanos; esta preocupación ha sido expuesta por autores como Gomes *et al.* (2009), quienes trabajando con géneros de esta familia presentes en Brasil, combinaron datos anatómicos con secuencias moleculares para la construcción de filogenias.

Para la conducción de trabajos de esta naturaleza, donde se requiere la incorporación de múltiples variables, surge la fenética como herramienta indispensable; esta ha sido propuesta como una teoría de clasificación basada en la semejanza global o total de los organismos, en función de los caracteres utilizados. Los principios operativos tienen su fundamento en una serie de técnicas numéricas que operan sobre un número de distancias y miden la similitud entre los grupos (Crisci y López, 1983).

Este enfoque metodológico, también denominado taxonomía numérica, constituye una evaluación de la similitud o afinidad entre unidades taxonómicas operacionales, donde los taxa son agrupados con base al estado de sus caracteres (Sneath y Sokal, 1973). Estas operaciones numéricas se realizan mediante programas computarizados que permiten el procesamiento de gran cantidad de datos.

En este capítulo el objetivo principal fue determinar el grado de similitud morfológica, anatómica y fitoquímica de las especies de *Psidium* analizadas, con énfasis en las que se distribuyen en el occidente venezolano, permitiendo establecer algunos límites taxonómicos entre las mismas.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente análisis integrado se incluyeron 44 individuos correspondientes a las especies: *P. acutangulum*, *Psidium guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus*, especies seleccionadas como grupos de estudio en los capítulos anteriores de esta tesis.

En total se analizaron 49 variables, correspondientes a 15 variables morfológicas, 29 anatómicas y 5 fitoquímicas, evaluadas en los capítulos de anatomía, fitoquímica y morfología. Un listado de éstas variables con sus estados de carácter se presenta en el cuadro 1.

En una matriz de datos elaborada en Microsoft Windows Excel (2007) se recopiló toda la información para su posterior procesamiento con el programa estadístico SAS versión 9.1.3.

Cuadro 1. Listado de variables consideradas para el análisis integrado

TIPO DE VARIABLE	CARÁCTER	ESTADO DE CÁRACTER
MORFOLÓGICAS	1) Presencia de estípulas	Caedizas Persistentes
	2) Orientación de hojas	Erectas Planas Caídas
	3) Forma de la hoja	Elíptica Oblonga Lanceolada

		<p>Oval</p> <p>Obovada</p> <p>Otra</p>
	4) Relación largo-ancho de la hoja	<p>Baja ($< a 1,5$)</p> <p>Mediana ($\geq a 1.5 \leq a 3.0$)</p> <p>Alta ($> a 3.0$)</p>
	5) Pubescencia en el envés de la hoja	<p>Ausente</p> <p>Presente</p>
	6) Pubescencia en el haz de la hoja	<p>Ausente</p> <p>Presente</p>
	7) Curvatura del nervio medio	<p>Ausente</p> <p>Presente</p>
	8) Filotaxia	<p>Opuestas</p> <p>Opuestas decusadas</p> <p>Otra</p>
	9) Número de pares de nervaduras	<p>Baja ($< a 10$ pares)</p> <p>Mediana ($\geq a 10 \leq a 16$ pares)</p> <p>Alta ($> a 16$ pares)</p>
	10) Tipo de inflorescencia	<p>Solitarias</p>

	Cima bípara Ambas Otra
	11) Longitud del pedicelo (cm)
	12) Número de sépalos
	13) Relación largo/ancho de los sépalos
	14) Longitud de la hoja (cm)
	15) Ancho de la hoja (cm)
ANATÓMICAS	1) Tipo de epidermis Simple Múltiple
	2) Forma de células epidérmicas en sentido transversal Rectangulares Ovales Otra forma
	3) Tamaño relativo de los estratos epidérmicos Adaxial<abaxial Adaxial=abaxial Adaxial>abaxial
	4) Estratos celulares sub-epidérmicos Presente Ausente
	5) Número de estratos sub-epidérmicos 0 estratos 1 estrato

		2 estratos 3 estratos
	6) Forma de las glándulas secretoras	Isodiamétrica Redondeada Otra forma
	7) Forma de las células adyacentes a las glándulas secretoras	Paredes anticlinales rectas Paredes anticlinales sinuosas Paredes anticlinales en zig-zag Otra
	8) Distribución de las cavidades secretoras	Superficie adaxial Superficie abaxial Ambas superficies
	9) Hoja según presencia de estomas	Epiestomática Hipoestomática Anfiestomática Glabrescente
	10) Tipo de estoma	Paracítico Anomocítico Anomaparacítico

	11) Distribución de estomas	Uniforme Agrupados
	12) Tipo de tricoma	Unicelular Ramificado Otro
	13) Tipo de mesófilo	Isolateral Bifacial
	14) Forma de las células del parénquima empalizada	Alargada Elíptica Otra
	15) Grado de diferenciación del parénquima esponjoso	Poco diferenciado No diferenciado Diferenciado
	16) Presencia de idioblastos	Presentes Ausentes
	17) Forma de la nervadura central	Biconvexa Plano-convexa Cóncavo-convexa Otra
	18) Tipo de haz vascular	Bicolateral

	principal	Colateral
	19) Forma del haz vascular principal	En arco Semi-arco Casi plano
	20) Presencia de haces vasculares secundarios	Presentes Ausentes
	21) Forma de las células parenquimáticas en el haz principal	Isodiamétricas Irregulares
	22) Presencia de fibras pericíclicas	Presentes Ausentes
	23) Grosor del parénquima empalizada	(μm)
	24) Grosor del parénquima esponjoso	(μm)
	Grosor del mesófilo	(μm)
	FITOQUÍMICAS	
	miricetina	(g.100g ⁻¹)
	luteonina	(g.100g ⁻¹)
	quercetina	(g.100g ⁻¹)
	apigenina	(g.100g ⁻¹)
	kaempferol	(g.100g ⁻¹)

Las variables de tipo cuantitativo permitieron la obtención de los diferentes grupos de especies, para lo cual se aplicó el análisis de conglomerados mediante el Método de la Varianza Mínima de Ward (procedimiento CLUSTER del SAS). Para determinar cuáles de estas características incidieron mayormente sobre el agrupamiento, se empleó el Análisis de Componentes Principales (ACP, PRINCOMP del SAS).

En el caso de las variables cualitativas, se utilizó un análisis de frecuencia mediante el procedimiento Proc freq (SAS), a fin de seleccionar los caracteres de esta naturaleza que mayormente aportaron a la distinción de dichos grupos, las cuales aparecen resaltadas en negrillas el cuadro 4.

RESULTADOS

Análisis Cluster

En el análisis de conglomerado obtenido al combinar caracteres anatómicos, morfológicos y fitoquímicos, se evidenció la formación de tres grupos de especies (Figura 1). El grupo 1 conformado por 18 individuos pertenecientes a las especies *Psidium guineense*, *P. sartorianum* y *P. guajava*; el grupo 2 integrado por 10 individuos de las especies *P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. guajava* y *P. guineense* y el grupo 3, al cual se incorporaron 13 individuos de las especies *P. guajava*, *P. salutare* y *Calycolpus moritzianus*. Es de destacar, que inicialmente se consideraron 44 individuos, pero tres de ellos presentaron algunos datos faltantes por lo cual el análisis los extrajo.

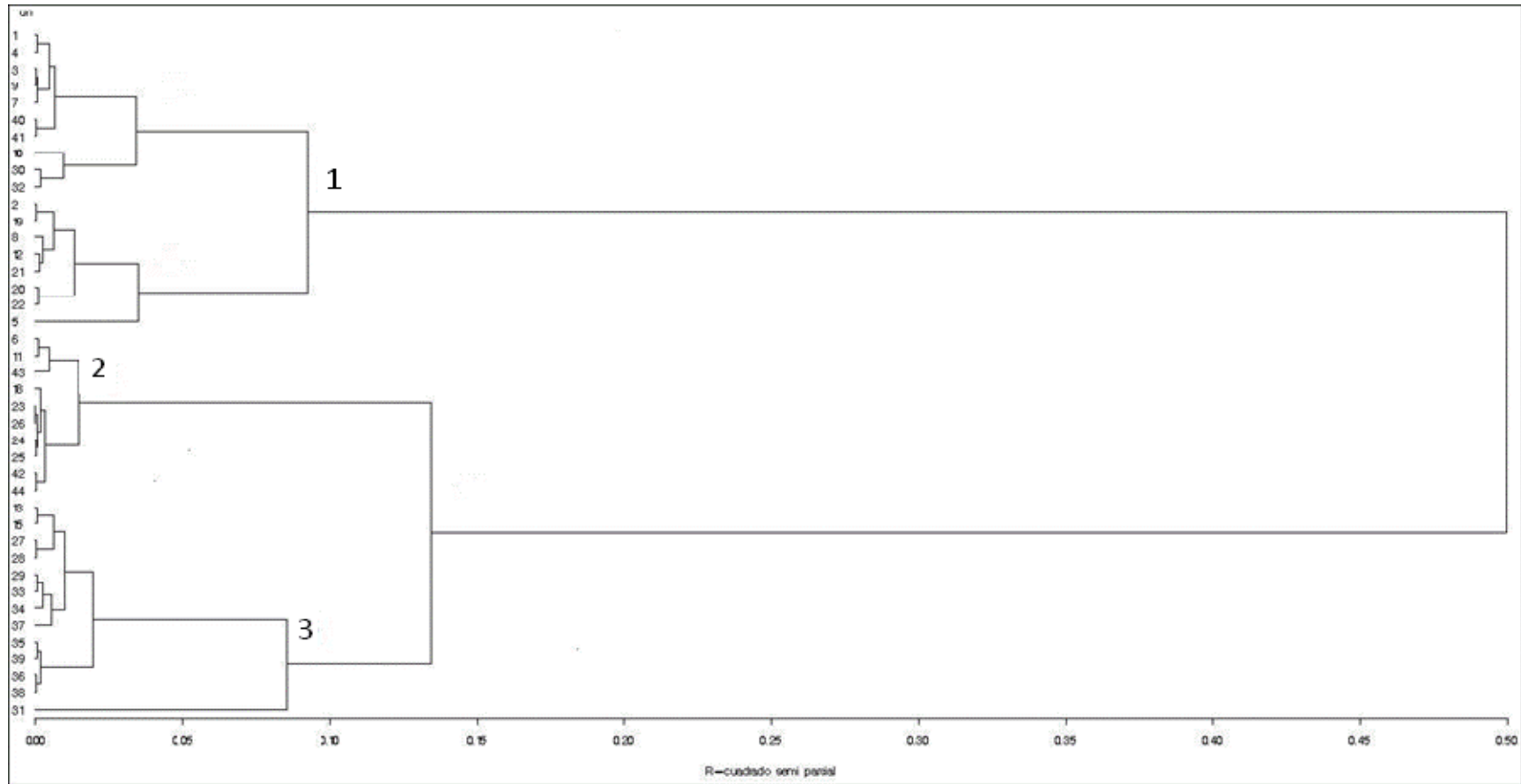


Figura 1. Dendrograma resultante del análisis de conglomerado (Cluster) aplicado a especies de *Psidium*, integrando datos anatómicos, morfológicos y fitoquímicos. Los individuos identificados con los números 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12, corresponden a la especie *P. guineense*; 13, 14, 15, 16, y 17 a *Calycolpus moritzianus*; 18 a *P. maribense*; 19, 20, 21 y 22 a *P. sartorianum*; 23, 24, 25 y 26 a *P. acutangulum*; 27, 28 y 29 a *P. salutare* y 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 y 44 a *P. guajava*.

Análisis de Componentes Principales

El análisis de componentes principales seleccionó trece del total de las variables inicialmente consideradas para explicar los grupos obtenidos. En la figura 2 se reflejan los tres grupos generados por el análisis Cluster.

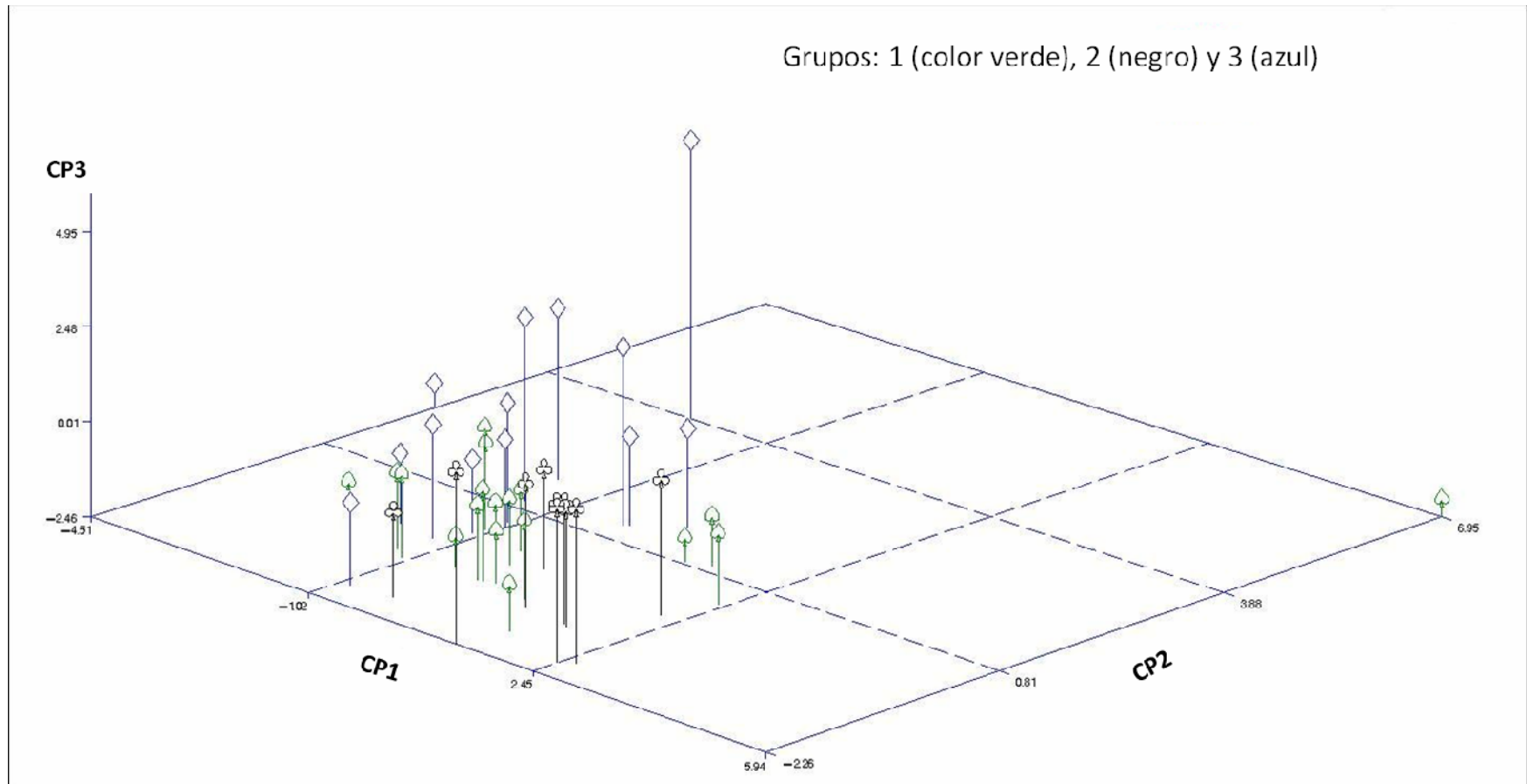


Figura 2. Ordenación de los componentes principales generados por las características anatómicas, morfológicas y fitoquímicas en especies de *Psidium*.

En el cuadro 2 se observa que la sumatoria de los tres primeros componentes explica el 63,43% de la variación observada con relación a las características anatómicas, morfológicas y fitoquímicas en especies de *Psidium*. El primer componente (CP1) interpretó el 26,30% de la variabilidad, el segundo (CP2) 21,87% y el tercero (CP3) 15,26%.

Cuadro 2. Valores propios y proporción de la varianza para los trece componentes principales con relación a las características anatómicas, morfológicas y fitoquímicas determinadas en especies de *Psidium*.

Componente Principal	Valores propios	Proporción de la varianza	
		Propia	Acumulada
CP1	3.41860655	0.2630	0.2630
CP2	2.84310356	0.2187	0.4817
CP3	1.98427533	0.1526	0.6343
CP4	1.47234598	0.1133	0.7476
CP5	0.69255734	0.0533	0.8154
CP6	0.69255734	0.0533	0.8687
CP7	0.55073930	0.0424	0.9110
CP8	0.39343416	0.0303	0.9413
CP9	0.35033992	0.0269	0.9682
CP10	0.27098267	0.0208	0.9891
CP11	0.10476964	0.0081	0.9971
CP12	0.02170366	0.0017	0.9988
CP13	0.01540651	0.0012	1.0000

Se determinó que las características que aportaron en mayor proporción a la variabilidad de los tres primeros componentes fueron en CP1: ancho de la hoja, tamaño de los sépalos, grosor del parénquima empalizada, grosor del mesófilo y la concentración del flavonoide miricetina; en CP2: longitud y ancho de la hoja, grosor del parénquima esponjoso, grosor del mesófilo y la concentración de luteonina y kaempferol; en CP3: longitud del pedicelo, grosor de la pared de las células epidérmicas, ancho de estomas y longitud de tricomas (Cuadro 3).

Cuadro 3. Vectores propios para los tres primeros componentes principales (CP) con relación a las características anatómicas, morfológicas y fitoquímicas determinadas en especies de *Psidium*

Variables	CP1	CP2	CP3
Longitud de la hoja (cm)	0.231024	-0.351625	-0.071698
Ancho de la hoja (cm)	0.302705	-0.314187	-0.145354
Longitud del pedicelo (cm)	-0.046581	-0.145959	0.334886
Tamaño de los sépalos (cm)	0.323324	0.204102	0.187514
Grosor pared células epidérmicas (μm)	0.160314	0.195363	0.492908
Ancho de estoma (μm)	0.178429	0.211202	0.461951
Longitud tricomas (μm)	-0.148787	0.020128	-0.441382
Grosor parénquima empalizada (μm)	0.413268	0.176011	-0.174144
Grosor parénquima esponjoso (μm)	0.293595	0.334775	-0.244514
Grosor mesófilo	0.389650	0.309423	-0.247083
%miricetina ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$)	-0.371742	0.112069	0.030304
% luteonina ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$)	-0.274791	0.420903	-0.151908
% kaempferol ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$)	-0.214701	0.450545	0.009446

Los números resaltados con negrillas corresponden a los valores más altos

Con relación a las variables cualitativas, el análisis de frecuencia generó los resultados presentados en el cuadro 4, cuando se compararon las tres agrupaciones de especies.

Cuadro 4. Proporción de los caracteres cualitativos correspondientes a las conformaciones de especies generadas

Variable/Grupo	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
MORFOLÓGICAS	Caedizas=22,23%	Caedizas=80%	Caedizas=84,62%
1) Presencia de estípulas	Persistentes=77,77%	Persistentes=20%	Persistentes=15,38%
2) Orientación de las hojas	Erectas= 93,75% Planas= 6,25% Caídas= 0%	Erectas= 94,12% Planas= 5,88% Caídas= 0%	Erectas= 100% Planas= 0%% Caídas= 0%
3) Forma de la hoja	Elíptica=100% Oblonga=0% Lanceolada=0% Oval=0% Obovada=0% Otra=0%	Elíptica=64,71% Oblonga=0% Lanceolada=5,88% Oval=23,53% Obovada=5,88% Otra=0%	Elíptica=84,60% Oblonga=0% Lanceolada=15,4% Oval=0% Obovada=0% Otra=0%
5) Pubescencia en el envés de la hoja	Ausente= 25% Presente=75%	Ausente= 29,41% Presente=70,59%	Ausente= 0% Presente=100%
6) Pubescencia en el haz de la hoja	Ausente= 22,22% Presente=77,78%	Ausente= 40% Presente=60%	Ausente= 15,38% Presente=84,62%
7) Curvatura del nervio medio	Ausente= 22,22% Presente=77,78%	Ausente=100% Presente=0%	Ausente=84,62% Presente=15,38%
8) Filotaxia de las hojas	Opuestas=25% Opuestas=75% decurvas	Opuestas=23,53% Opuestas=76,47% decurvas	Opuestas=0% Opuestas=100% decurvas

	Otra=0%	Otra=0%	Otra=0%
9) Número de pares nervaduras	Baja (< a 10 pares)= 22,22% Mediana (\geq a 10 \leq a 16 pares)=55,55% Alta (> a 16 pares)=22,22%	Baja (< a 10 pares)= 0% Mediana (\geq a 10 \leq a 16 pares)=50% Alta (> a 16 pares)=50%	Baja (< a 10 pares)= 23,07% Mediana (\geq a 10 \leq a 16 pares)=0% Alta (> a 16 pares)=76,93%
10) Tipo de inflorescencia	Solitarias= 57,4% Cima bípara=35,18% Ambas=7,40% Otra=0%	Solitarias= 70% Cima bípara=20% Ambas=10% Otra=0%	Solitarias=40% Cima bípara=40% Ambas=20% Otra=0%
ANATÓMICAS	Simple= 100%	Simple= 100%	Simple= 100%
1) Tipo de epidermis	Múltiple= 0%	Múltiple= 0%	Múltiple= 0%
2) Forma de células epidérmicas en sentido transversal	Rectangulares= 6,25% Ovales=93,75% Otra forma=0%	Rectangulares= 17,63% Ovales=82,35% Otra forma=0%	Rectangulares= 0% Ovales=100% Otra forma=0%
3) Tamaño relativo de los estratos epidérmicos	Adaxial<abaxial=0% Adaxial=abaxial=6,25% Adaxial>abaxial=93,75%	Adaxial<abaxial=0% Adaxial=abaxial=17,65% Adaxial>abaxial=82,35%	Adaxial<abaxial=0% Adaxial=abaxial=0% Adaxial>abaxial=100%
4) Estratos celulares sub-epidérmicos	Presente=100% Ausente=0%	Presente=94,12% Ausente=5,88%	Presente=100% Ausente= 0%
5) Número de estratos sub-epidérmicos	0 estratos= 0% Un estrato= 25% Dos estratos=68,75% Tres estratos=6,25%	0 estratos= 0% Un estrato= 50% Dos estratos=20% Tres estratos=30%	0 estratos= 15,38% Un estrato= 23,07% Dos estratos=30% Tres estratos=31,53%
6) Forma de las glándulas secretoras	Isodiamétrica= 0% Redondeada= 100%	Isodiamétrica= 0% Redondeada= 100%	Isodiamétrica= 0% Redondeada= 100%

	Otra forma= 0%	Otra forma= 0%	Otra forma= 0%
7) Forma de las células adyacentes a las glándulas secretoras	Paredes anticlinales rectas= 0% Paredes anticlinales sinuosas= 100% Paredes anticlinales en zig-zag= 0% Otra= 0%	Paredes anticlinales rectas= 0% Paredes anticlinales sinuosas= 100% Paredes anticlinales en zig-zag= 0% Otra= 0%	Paredes anticlinales rectas= 0% Paredes anticlinales sinuosas= 100% Paredes anticlinales en zig-zag= 0% Otra= 0%
8) Distribución de las cavidades secretoras	Superficie adaxial= 0% Superficie abaxial= 0% Ambas superficies= 100%	Superficie adaxial= 0% Superficie abaxial= 0% Ambas superficies= 100%	Superficie adaxial= 0% Superficie abaxial= 0% Ambas superficies= 100%
9) Hoja según presencia de estomas	Epiestomática= 0% Hipoestomática= 75% Anfiestomática= 25% Glabrescente= 0%	Epiestomática= 0% Hipoestomática= 90% Anfiestomática= 10% Glabrescente= 0%	Epiestomática= 0% Hipoestomática= 100% Anfiestomática= 0% Glabrescente= 0%
10) Tipo de estoma	Paracítico= 100% Anomocítico= 0% Anomaparacítico= 0%	Paracítico= 100% Anomocítico= 0% Anomaparacítico= 0%	Paracítico= 100% Anomocítico= 0% Anomaparacítico= 0%
11) Distribución de estomas	Uniforme= 100% Agrupados= 0%	Uniforme= 100% Agrupados= 0%	Uniforme= 100% Agrupados= 0%
12) Tipo de tricoma	Unicelular= 100% Ramificado= 0% Otro	Unicelular= 100% Ramificado= 0% Otro	Unicelular= 100% Ramificado= 0% Otro
13) Tipo de mesófilo	Isolateral= 0% Bifacial= 100%	Isolateral= 0% Bifacial= 100%	Isolateral= 0% Bifacial= 100%
14) Forma de las células del parénquima	Alargada= 62,50%	Alargada= 76,47%	Alargada= 100%

empalizada	Elíptica= 37,50% Otra= 0%	Elíptica= 23,53% Otra= 0%	Elíptica= 0% Otra= 0%
15) Grado de diferenciación del parénquima esponjoso	No diferenciado= 0% Poco diferenciado=40% Diferenciado= 60%	No diferenciado= 0% Poco diferenciado= 75% Diferenciado= 25%	No diferenciado=0% Poco diferenciado= 30,76% Diferenciado=69,24%
16) Presencia de idioblastos	Presentes=100% Ausentes= 0%	Presentes= 100% Ausentes= 0%	Presentes= 100% Ausentes= 0%
17) Forma de la nervadura central	Biconvexa= 6,67% Plano-convexa= 73,33% Cóncavo-convexa= 20% Otra= 0%	Biconvexa= 0% Plano-convexa= 53,85% Cóncavo-convexa= 38,46% Otra= 7,69%	Biconvexa= 0% Plano-convexa= 0% Cóncavo-convexa= 100 % Otra=0 %
18) Tipo de haz vascular principal	Bicolateral= 100% Colateral= 0%	Bicolateral= 100% Colateral= 0%	Bicolateral= 100% Colateral= 0%
19) Forma del haz vascular principal	En arco= 11,11% Semi-arco= 66,66 Casi plano= 22,22%	En arco= 70% Semi-arco= 30% Casi plano= 0%	En arco= 76,93% Semi-arco= 0% Casi plano= 23,07%
20) Presencia de haces vasculares secundarios	Presentes= 6,25% Ausentes= 93,75%	Presentes= 5,88% Ausentes= 94,12%	Presentes= 0% Ausentes= 100%
21) Forma de las células parenq. en el haz vascular ppal	Isodiamétricas= 100% Irregulares= 0%	Isodiamétricas= 100% Irregulares= 0%	Isodiamétricas= 100% Irregulares= 0%
22) Presencia de Fibras pericíclicas	Presentes= 100% Ausentes= 0%	Presentes= 100% Ausentes= 0%	Presentes= 100% Ausentes= 0%

A continuación se presentan características distintivas observadas en la conformación de los tres grupos de especies, considerando las variables cuantitativas y cualitativas más determinantes en la discriminación de los mismos.

Grupo 1 (*Psidium guineense*, *P. sartorianum* y *P. guajava*)

Caracteres morfológicos cuantitativos: longitud y ancho de la hoja igual a 8,72 cm y 3,96 cm, respectivamente; tamaño de los sépalos en promedio 1,64 cm, y longitud del pedicelo 1,45 cm (Cuadro 5).

Caracteres morfológicos cualitativos: las estípulas fueron persistentes en la mayoría de los individuos (77,77%); hojas de forma elípticas (100%); 22,22% de los individuos analizados no presentó pubescencia en el haz de la hoja, ni curvatura en el nervio medio de la lámina foliar; con respecto al número de pares de nervaduras 55,55% presentó entre 10 a 16 pares de nervaduras; el tipo de inflorescencia fue mayoritariamente solitaria (57,4%), un 35,18% de los individuos presentó cima bípara y en 7,40% se determinó ambos tipos de inflorescencia. (Cuadro 4).

Caracteres anatómicos cuantitativos: grosor de la pared de la célula epidérmica igual a 1,42 μm , el ancho del estoma correspondió a 14,85 μm , así como una longitud de tricoma de 257, 08 μm ; el grosor del parénquima empalizada y del parénquima esponjoso fue igual a 53,09 y 65,55 μm , respectivamente, determinando 118, 56 μm de espesor del mesófilo (Cuadro 5).

Características anatómicas cualitativas: en el 68,75% de los individuos se observaron dos estratos sub-epidérmicos, un estrato sub-epidérmico en el 25% de los individuos y 6,25% presentó tres estratos. El tipo de hoja según la presencia de estomas fue en mayor proporción hipoestomática (75%) y en el 25 % fue anfiestomática. Un 60% de los individuos presentó el parénquima esponjoso diferenciado. Por último, la forma del haz vascular principal en este grupo fue predominantemente semi-arqueada (66,66%), y la distribución restante fue 22,22% para la forma casi plana y 11,11% en arco (Cuadro 4).

Características fitoquímicas: se presentaron concentraciones de los flavonoides miricetina, luteonina y kaempferol en las siguientes proporciones: 0,06, 0,07 y 0,01 g.100g⁻¹, respectivamente (Cuadro 5).

Cuadro 5. Promedio y desviación estándar de los caracteres cuantitativos correspondientes al grupo 1.

Variable	Promedio y desviación estándar
Longitud de la hoja (cm)	8,72 ± 3.14
Ancho de la hoja (cm)	3,96 ± 1.50
Tamaño de los sépalos (cm)	1,64 ± 0.49
Longitud del pedicelo (cm)	1,45 ± 0.37
Grosor de la pared de la célula epidérmica (µm)	1,42 ± 0.36
Ancho de estoma (µm)	14,85 ± 2.57
Longitud de tricoma (µm)	257,08 ± 48.98
Grosor del parénquima empalizada (µm)	53,09 ± 17.29
Grosor del parénquima esponjoso (µm)	65,55 ± 21.66
Grosor del mesófilo (µm)	118, 56 ± 31.68
miricetina (g.100g⁻¹)	0,06 ± 0.09
luteonina (g.100g⁻¹)	0,07 ± 0.26
kaempferol (g.100g⁻¹)	0,01 ± 0.027

Grupo 2 (*P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. guajava* y *P. guineense*)

Caracteres morfológicos cuantitativos: promedio de longitud de la hoja igual a 8,90 cm, el ancho de la misma equivalió a 3,83 cm, el tamaño de los sépalos fue 1,36 cm y la longitud del pedicelo correspondió a 1,92 cm (Cuadro 6).

Caracteres morfológicos cualitativos: las estípulas fueron mayormente de tipo caedizas (80%); la forma de la hoja fue en su mayoría elíptica (64,71%), seguida por la forma oval (23,53%) y en menor proporción lanceolada y obovada, con igual porcentaje (5,88%). En el haz de las láminas foliares se observó pubescencia a un 60% de los individuos, mientras que a un 40% no; sin evidencia de curvatura en el nervio medio de la hoja en 100% de los individuos. Este grupo presentó 50% de los individuos con más de 16 pares de nervaduras e igual porcentaje entre 10 y 16 pares; la mayor parte de éstos presentó flores solitarias (70%), 20% cima bípara y 10% ambos tipos (Cuadro 4).

Caracteres anatómicos cuantitativos: el grosor de la pared de la célula epidérmica correspondió a 1,57 μm , los estomas presentaron un ancho igual a 14,80 μm , los tricomas una longitud de 135,03 μm , y la región del mesófilo midió en sección transversal 69,14 μm , cuando se sumó el parénquima empalizada y el parénquima esponjoso que midieron cada uno 29,44 μm y 39,69 μm , respectivamente (Cuadro 6).

Caracteres anatómicos cualitativos: el 50% de los individuos presentó un estrato subepidérmico, mientras que el 30 evidenció tres estratos, y 20% presentó dos capas o estratos celulares. Las hojas según la presencia de estomas en las superficies de la lámina foliar fueron mayoritariamente hipoestomáticas (90%) y sólo el 10% anfiestomática. El parénquima esponjoso fue mayoritariamente poco diferenciado (75%) y en menor proporción diferenciado (25%). La forma del haz vascular principal fue en la mayoría de los casos en arco (70%) y menos frecuente fue la forma semi-arqueada (30%) (Cuadro 4).

Caracteres fitoquímicos: en cuanto a la presencia de flavonoides, a este grupo sólo se le detectó miricetina en concentración de 0,12 $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$ (Cuadro 6).

Cuadro 6. Promedio y desviación estándar de los caracteres cuantitativos correspondientes al grupo 2.

Variable	Promedio y desviación estándar
Longitud de la hoja (cm)	8,90 ± 2.45
Ancho de la hoja (cm)	3,83 ± 1.25
Tamaño de los sépalos (cm)	1,36 ± 0.28
Longitud del pedicelo (cm)	1,92 ± 0.94
Grosor de la pared de la célula epidérmica (µm)	1,57 ± 0.47
Ancho de estoma (µm)	14,80 ± 1.41
Longitud de tricoma (µm)	135,03 ± 23.44
Grosor del parénquima empalizada (µm)	29,44 ± 11.64
Grosor del parénquima esponjoso (µm)	39,69 ± 12.33
Grosor del mesófilo (µm)	69,14 ± 11.71
miricetina (g.100g⁻¹)	0,12 ± 0.11
luteonina (g.100g⁻¹)	0
kaempferol (g.100g⁻¹)	0

Grupo 3 (*P. guajava*, *P. salutare* y *Calycolpus moritzianus*)

Caracteres morfológicos cuantitativos: longitud y ancho de la hoja igual a 8, 12 cm y 3, 82 cm, respectivamente; los sépalos midieron 2, 01 cm y el pedicelo 1, 44 cm (Cuadro 7).

Caracteres morfológicos cualitativos: la mayoría de los individuos presentó estípulas caedizas (84,62%); la forma de las láminas foliares fue elíptica en 84,60% y lanceolada en 15,4%; 84,62% presentaron pubescencia en el haz y ausencia de curvatura en la vena media de la hoja, prevalescencia de alto número de pares de nervaduras (76,93%); flores solitarias: 40%, cimas bíparas: 40% y ambos tipos: 20%. (Cuadro 4).

Caracteres anatómicos cuantitativos: grosor de la pared de la célula epidérmica igual a 2,51 μm , el ancho de estoma fue 23,82 μm , tricomas de longitud igual a 122, 53 μm ; con relación al mesófilo este midió 138, 07 μm , considerando que el parénquima empalizada y el esponjoso midieron 59,47 y 78,61 μm , respectivamente (Cuadro 7).

Caracteres anatómicos cualitativos: 31,53% de los individuos presentaron tres estratos sub-epidérmicos, 30% dos estratos, 23,07% un estrato y en un 15,38% no se evidenciaron estas capas celulares; de acuerdo a la presencia de estomas todas las hojas fueron hipoestomáticas; en un 69,24% de los individuos se observó el parénquima esponjoso diferenciado; en 76,93% se evidenció una forma del haz vascular central arqueada (Cuadro 4).

Caracteres fitoquímicos: se determinó en el 100% de los casos miricetina, luteonina y kaempferol en concentraciones de 0,02, 0,03 y 0,0044 g. 100g^{-1} (Cuadro 7).

Cuadro 7. Promedio y desviación estándar de los caracteres cuantitativos correspondientes al grupo 3.

Variable	Promedio y desviación estándar
Longitud de la hoja (cm)	$8,12 \pm 3.14$
Ancho de la hoja (cm)	$3,82 \pm 1.40$
Tamaño de los sépalos (cm)	$2,01 \pm 0.53$
Longitud del pedicelo (cm)	$1,44 \pm 0.66$
Grosor de la pared de la célula epidérmica (μm)	$2,51 \pm 1.40$
Ancho de estoma (μm)	$23,82 \pm 16.60$
Longitud de tricoma (μm)	$122,53 \pm 26.98$
Grosor del parénquima empalizada (μm)	$59,47 \pm 11.12$
Grosor del parénquima esponjoso (μm)	$78,61 \pm 34.51$
Grosor del mesófilo (μm)	$138,07 \pm 37.73$
miricetina ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$)	$0,02 \pm 0.018$
luteonina ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$)	$0,03 \pm 0.04$
kaempferol ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$)	$0,004 \pm 0.012$

DISCUSIÓN

El análisis de agrupamiento determinó la presencia de la especie *P. guajava* en las tres conformaciones obtenidas, así como a *P. guineense* en los grupos uno y dos. Algunas de las razones que pudieran explicar este resultado se relacionan con el hecho de que estas especies son consideradas morfológicamente muy cercanas, refiriéndose en estudios previos que *P. guajava* es comúnmente confundida con *P. guineense* por su semejanza morfológica (Mc Vaugh, 1963), e incluso se ha expuesto la factibilidad de hibridación entre las mismas (Bruce *et al.*, 2003). De la misma forma, revisiones recientes señalan que dichas especies son las más abundantes en la región occidental de Venezuela (Pacheco *et al.*, 2011); ambas se encontraron compartiendo el mismo hábitat en las localidades donde se efectuaron las recolecciones de material vegetal para este estudio. No obstante, es de gran interés considerar que el 83,33% de los individuos analizados de *P. guineense* se incorporó al grupo 1, y el 53,33% de los de *P. guajava* se integró al grupo 3.

Al comparar los resultados de este análisis combinado con los obtenidos al usar de manera separada los caracteres morfológicos, anatómicos y fitoquímicos, los cuales han sido expuestos en capítulos previos de esta tesis, se evidenciaron ciertas variaciones.

En el caso de las variables de tipo morfológico, hubo coincidencia parcial; el estudio individual asoció igualmente a las especies *P. guineense*, *P. guajava*, lo cual se puede explicar considerando las razones anteriormente esgrimidas; otras agrupaciones similares fueron *C. moritzianus* con *P. salutare*, y *P. acutangulum* con *P. guineense*.

Haciendo mención a dichas variables, en lo que respecta a la longitud y ancho de la hoja, se puede comentar que aun cuando fueron parte de las seleccionadas como distintivas, presentaron muy poca variación al comparar sus promedios entre los grupos resultantes; el mayor valor promedio de longitud de la hoja (8,90 cm) lo presentó el grupo dos (*P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. guajava*

y *P. guineense*), mientras que el grupo número tres (*P. guajava*, *P. salutare* y *Calycolpus moritzianus*) registró el valor más bajo (8, 12 cm). En este sentido, es conveniente recordar que en el análisis morfológico se determinó en *P. acutangulum* un alto valor de longitud de la hoja (7 a 10,5 cm), mientras que *Calycolpus moritzianus* presentó un bajo valor comparativo (4,5 a 7,5 cm), aportando estas especies su respectiva proporción a los grupos obtenidos en el análisis integrado.

El ancho de la hoja no presentó variación al comparar los grupos dos y tres (3,83 cm); el grupo uno presentó el valor más alto el cual fue 3,96 cm, en donde se encuentra principalmente *P. guineense*, especie que puede registrar ancho de hoja hasta 6 cm.

Otra variable de tipo morfológico predominante fue el tamaño de los sépalos. En el grupo tres se obtuvo el mayor valor correspondiente a este carácter el cual fue 2,01 cm; mientras que el grupo dos presentó el menor valor (1,36 cm). Estos resultados coinciden parcialmente con el obtenido en el análisis morfológico, donde las especies *P. guajava* (1,48 cm) y *Calycolpus moritzianus* (2,90 cm) presentaron altos promedios de ésta variable, sin embargo se distribuyeron en agrupaciones diferentes cuando se compararon solo caracteres morfológicos (Rivero *et al.*, 2012).

Con relación a la longitud del pedicelo, el mayor valor correspondió al grupo 2 con 1,93 cm; el grupo uno y el grupo tres presentaron promedios muy similares (1,449 cm y 1,446 cm, respectivamente). En *P. acutangulum* se determinó el valor más alto de esta variable (2 a 3 cm), al compararlo con las otras especies que compartieron el mismo grupo en el análisis morfológico.

Con respecto a las variables anatómicas el análisis individual coincidió completamente con los resultados obtenidos en éste, en cuanto a la generación de tres grupos integrados por las mismas especies; no obstante, en el integrado sólo seis variables anatómicas fueron las determinantes en dichos agrupamientos.

El grosor de la pared de la célula epidérmica fue mayor en el grupo tres (2,51 μm), mientras que el menor se obtuvo en el grupo 1 (1,41 μm); el grupo dos registró un promedio de 1,57 μm . El ancho de estoma fue muy similar al comparar los grupos 1 y 2, obteniéndose el mayor valor en el grupo 3 (23,83 μm). Con respecto a la longitud de tricomas se observó una mayor variación, registrándose el mayor y menor valor promedio en el grupo 1 (257,08 μm) y grupo tres (122,52 μm), respectivamente.

El mayor valor de grosor del mesófilo correspondió al grupo tres (138,07 μm), mientras que el grupo dos presentó el menor valor (64,23 μm). En un estudio anatómico reciente se evidenció que *P. guajava* y *P. guineense* presentaron un amplio mesófilo por la existencia del parénquima empalizada conformado por dos a tres estratos celulares y una amplia sección de parénquima esponjoso comprendiendo 4 a 5 filas de células de forma alargada (Rivero *et al.*, 2011), y en otro no publicado aún, se determinó que *P. acutangulum* y *P. maribense* presentaron los menores valores de grosor del mesófilo (56, 16 y 60,57 μm , respectivamente) al compararlos con otras especies del género.

De los cinco flavonoides considerados en el análisis fitoquímico individual: apigenina, quercetina, luteonina, miricetina y kaempferol, en esta oportunidad solo se seleccionaron los tres últimos como determinantes en el agrupamiento.

La miricetina fue el flavonoide que estuvo presente en todos los grupos; registró la mayor concentración en el grupo dos (0,12 $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$), y la menor en el grupo tres (0,02 $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$), en el cual se concentró la mayor proporción de individuos analizados de la especie *P. guajava*. Este resultado, equivalente a 200 $\text{mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$, puede ser comparado con los obtenidos por Vargas *et al.*, (2006), cuando en hojas maduras de *P. guajava* detectaron 208,44 $\text{mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$ de miricetina específicamente en el mes de julio al comparar diferentes épocas del año para la determinación de la mayor concentración de flavonoides, atribuyéndole un efecto importante sobre la misma. También se determinó la mayor concentración de

miricetina en la corteza, y en segundo lugar en las hojas cuando se evaluaron los diferentes órganos de la planta.

Otro aspecto resaltante lo constituyó la no detección, con la metodología aplicada, de luteonina y kaempferol en el grupo dos. Este resultado coincide con lo obtenido en el análisis individual, recordando que en *P. acutangulum* y *P. maribense*, quienes integraron el grupo dos, no se detectaron estos flavonoides. En la discusión del capítulo de fitoquímica, se estableció la probabilidad de que estos compuestos se encuentren presentes en otros órganos vegetales (Izco, 1997). Finalmente, es importante recordar que los resultados pueden presentar variaciones no solo dependiendo del factor genético, sino que pueden ser influenciados por las condiciones donde crecen las plantas (Vargas *et al.*, 2006).

Si se comparan los resultados de los análisis individuales con los del integrado, se evidencia que en éste último hubo una mayor condensación de las especies en tres grandes grupos, producto de una selección más rigurosa, ya que se consideraron sólo las variables que mayor aporte hicieron para la asociación de las mismas. En el hecho de que el análisis anatómico guardara mucha similitud en cuanto a la conformación de grupos cuando se comparó con el integrado, se debe tomar en cuenta que en éste último la mayor parte de las variables seleccionadas fueron de esta naturaleza.

En investigaciones previas se ha determinado que cuando se aplican análisis multivariados, la selección de variables discriminantes contribuye sustancialmente a dilucidar las relaciones sistemáticas entre especies. Así en el género *Hyptis* de la familia Lamiaceae, se realizó un análisis multivariado para determinar los patrones de distribución de los taxa considerando caracteres morfológicos tanto vegetativos como reproductivos; las relaciones entre los taxa examinados se expresaron como agrupaciones jerárquicas (método de De Ward), usando análisis de correspondencia múltiple, basándose en cincuenta caracteres distribuidos en 168 estados de carácter. El mapa porcentual demostró la subdivisión de *Hyptis* en dos grandes grupos. El análisis de agrupamiento se

focalizó en sólo seis de los caracteres morfológicos, los cuales fueron distinguidos por medio de un análisis discriminante de correspondencia, el cual reveló rasgos similares (Silva *et al.*, 2011).

De igual forma en el género *Hyospathe* (Palmae), la aplicación de un análisis estadístico multivariado empleando datos morfológicos cualitativos y cuantitativos fue útil para delimitar grupos de especímenes; el análisis de conglomerado permitió la distinción entre caracteres y rasgos (Henderson, 2004).

CONCLUSIONES

Las especies *P. guineense* y *P. sartorianum*, *P. acutangulum*, *P. maribense* y *P. guajava*, y *P. salutare* con *Calycolpus moritzianus*, se asociaron para conformar tres agrupaciones derivadas de la similitud de caracteres morfológicos, anatómicos y fitoquímicos, a saber: la longitud y el ancho de la hoja, el tamaño de los sépalos y la longitud del pedicelo, el grosor de la pared de las células epidérmicas, el ancho de estomas y longitud de tricomas, el grosor del parénquima empalizada, del parénquima esponjoso y del mesófilo, y la presencia y concentración de los flavonoides miricetina, luteonina y kaempferol.

Un aspecto resaltante que restaría por dilucidar fue la integración de *P. guajava* y *P. guineense* en las diferentes conformaciones obtenidas, no obstante, el mayor número de individuos de *P. guineense* y *P. guajava* se integró al grupo 1 y al grupo 3, respectivamente. Entre otros aspectos, este hecho denota la gran afinidad que poseen ambas especies.

Los caracteres que en mayor grado aportaron a la distinción de las agrupaciones obtenidas fueron: la presencia de estípulas, forma de la hoja, pubescencia en el haz de la hoja, curvatura del nervio medio, número de pares de nervaduras, tipo de inflorescencia, número de estratos sub-epidérmicos, el grado de diferenciación del parénquima esponjoso y la forma del haz vascular principal.

LITERATURA CITADA

Crisci J. y M. López. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Organización de Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, D. C. 131 p.

Gomes, S., N. Somavilla, K. Gomes-Bezerra, S. do Couto, P. De-Carvalho y D. Graciano-Ribeiro. 2009. Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomía e filogenia. *Acta Botanica Brasilica*. 23: 223-238.

Henderson, A. 2004. A multivariate analysis oh *Hyospathe* (Palmae). *American Journal of Botany* 91: 953-956.

Hokche, O.; Berry, P. y Hubber, O. 2008. Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. 859 p.

Landrum, L. 2003. Flora of the Venezuelan Guayana, Volume 7, Myrtaceae-Plumbaginaceae, Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.

Mc Vaugh, R. 1963. Tropical American Myrtaceae, II, Notes on generic concepts and descriptions of previously unrecognized species. *Fieldiana* 29: 393-532.

Mc Vaugh, R. 1968. The genera of American Myrtaceae- An Interim report. *Taxon*.17: 354-415.

Pacheco D., Rivero G., Fuenmayor J., Sánchez A., Quirós M., Ortega J. y G. Sthormes. 2011. Aportes al estudio del género *Psidium* (Myrtaceae) en Venezuela. *Revista Facultad de Agronomía (LUZ)* 28 Supl. 1:181-189.

Rivero G.; Pacheco, D.; Sánchez, A.; Quirós, M.; Suárez E.; Fuenmayor, J. y Sthormes, G. 2011. Análisis preliminar de las características anatómicas foliares de *Psidium guajava* L. y *Psidium guineense* Sw. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 28: Suplemento especial 1:129-138.

Rivero G., Pacheco D., Fuenmayor J., Sánchez A., Quirós M., Ortega J., Bracho B. y J. Taborda. 2012. Análisis morfológico de especies de *Psidium* (Myrtaceae) presentes en Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ) 29:72:103.

SAS Institute, Inc. 2008. SAS user's guide: Statistics. Versión 9.1. 3, SAS Inst., Inc. NC, USA.

Silva, J., Ferreira H., Faría M., Schlieve M., Rezende M., Santos S., Seraphin J. y Ferri P. 2011. Multivariate analysis of vegetative and reproductive morphological characters in *Hyptis* Jacq. International Journal of Botany 7: 42-52.

Sneath P. y R. Sokal. 1973. Numerical Taxonomy. The principles and practice of numerical classification. W. H. Freeman & Co. San Francisco. 573 p.

Wilson, P.; O'Brien, M.; Gadek, P. y Quinn, C. 2001. Myrtaceae revisited: A reassessment of infrafamilial groups. American Journal of Botany 88: 2013-2025.

CAPÍTULO VI

Relaciones filogenéticas entre especies de *Psidium* (Myrtaceae) presentes en el occidente de Venezuela a partir de secuencias de ADN nuclear (ITS) y plastidial (*trnH-psbA*)

Gisela Rivero, Gerardo Salazar, Darisol Pacheco, Adriana Sánchez, Magally Quirós y Guillermo Sthornmes. 2012. Relaciones filogenéticas entre especies de *Psidium* (Myrtaceae) presentes en el occidente de Venezuela a partir de secuencias de ADN nuclear (ITS) y plastidial (*trnH-psbA*). *INTERCIENCIA*. 37(11): 838-844.

RESUMEN

El occidente de Venezuela representa una región con diversidad de especies de *Psidium*, por lo cual se planteó el objetivo de estimar las relaciones filogenéticas entre representantes del género a partir de secuencias moleculares. Se recolectaron hojas de *P. guineense*, *P. guajava*, *P. friedrichsthalianum* y *Calycolpus moritzianus* localizadas en Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia, y de ejemplares herborizados de *P. acutangulum*, a las cuales se les amplificó la región ITS del genoma nuclear (espaciadores ITS-4 e ITS-5) y la región *trnH-psbA*, del genoma plastidial. Adicionalmente, se incorporaron al análisis *P. cattleianum* y *P. cinereum*. Como grupo externo se incluyó a *Blepharocalix salicifolius*, *Calyptranthes lanceolata*, *Campomanesia pubescens*, *Eugenia sulcata*, *Luma chequen*, *Marlierea eugeniopsoides*, *Myrceugenia planipes* y *Pimenta dioica*. Se aplicó un análisis de parsimonia con el programa PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony), analizando las secuencias individualmente y combinándolas, obteniéndose con éste último modo árboles con mayor índice de Consistencia (IC). Los resultados apoyan la monofilia reportada para el género, lo cual responde a consideraciones morfoanatómicas y de distribución geográfica. Estos hallazgos pueden ser aplicables en programas de mejoramiento genético, considerando el potencial frutícola de algunas especies de *Psidium* en Venezuela.

PALABRAS CLAVE: ADN, Filogenia, Marcadores Moleculares, *Psidium*, Venezuela.

SUMMARY

Western Venezuela is a region with high diversity of *Psidium* species and, thus, the goal was established to estimate from the molecular sequences the phylogenetic relations between representatives of said genus. In the Venezuelan states of Mérida, Táchira, Trujillo and Zulia, leaves of *P. guineense*, *P. guajava*, *P. friedrichsthalianum* and *Calycolpus moritzianus*, as well as herbarium samples of *P. acutangulum*, were collected. The ITS region (ITS-4 and ITS-5 spacers) of the nuclear genome and the trnH-psbA region of the plastidial genome were amplified. Additionally, *P. cattleianum* and *P. cinereum* were also analyzed. As an external group were included *Blepharocalix salicifolius*, *Calypttranthes lanceolata*, *Campomanesia pubescens*, *Eugenia sulcata*, *Luma chequen*, *Marlierea eugeniopsoides*, *Myrceugenia planipes* and *Pimenta dioica*. A parsimony analysis using PAUP was applied, analyzing sequences individually and combining them in order to obtain trees with a higher consistency index (CI). Results support the monophylic nature of the genus, which corresponds to morphoanatomical and geographical distribution considerations. These findings can be applied in genetic improvement programs, considering the fruit production potential of some *Psidium* species in Venezuela.

INTRODUCCIÓN

La familia Myrtaceae incluye aproximadamente 133 géneros y entre 3800-5800 especies, sin embargo, aún existen discrepancias entre los trabajos realizados en cuanto a su circunscripción. El centro de diversidad se encuentra en Australia, sureste asiático y las regiones tropicales y subtropicales del continente Americano, teniendo una pequeña representación en África (Wilson *et al.*, 2001).

Lucas *et al.*, (2005) establecen que Myrtaceae es considerada una familia monofilética y bien delimitada. No obstante, la existencia de diversos criterios en cuanto a la circunscripción genérica, ha impulsado estudios filogenéticos recientes. Estos estudios han sido realizados principalmente en géneros del Paleotrópico, mientras que sólo algunos de los grupos americanos han sido revisados a través de deficientes análisis sistemáticos (*Myrceugenia*, *Campomanesia*, *Myrcianthes*). Asimismo, Gomes *et al.* (2009), al destacar la importancia de los caracteres anatómicos para estudios taxonómicos y evolutivos de esta familia refieren que pocos representantes de la tribu Myrteae ha sido revisados.

En Venezuela las Mirtáceas ocupan el lugar número diecisiete en la lista de su flora vascular; existen 19 géneros, 209 especies nativas o naturalizadas, incluyendo 34 especies (+ 2 variedades) endémicas; los géneros *Eugenia*, *Myrcia*, *Marlierea* y *Psidium* aportan cerca del 90% de las especies conocidas en el país (Bruce, 2008).

Psidium (Myrteae), tiene un rango natural que va desde México al norte de Argentina, extendiéndose a algunas islas de noreste Pacífico. Pocas especies de éste género han sido ampliamente dispersadas a través de su cultivo. La guayaba (*P. guajava*), es una de las plantas cultivadas más conocidas en muchas regiones secas del mundo, y ha sido naturalizada mucho más allá de su distribución original, el cual fue presumiblemente América tropical. La especie más dispersada y taxonómicamente más compleja del género es *P. guineense* (Mc Vaugh, 1968).

En Venezuela se reportan 13 especies de *Psidium* ampliamente distribuidas, las cuales se desarrollan preferentemente en las zonas cálidas y soleadas del norte del país, desde el nivel del mar hasta más o menos 1800 m de altitud, siendo *P. guineense* Sw y *P. guajava* L. las que se encuentran presentes en un mayor número de estados (en 19 y 13, respectivamente). En la región occidental los estados Zulia y Mérida, con 6 y 3 especies, se encuentran entre los más diversos (Bruce, 2008). Dentro de esta gran diversidad existen tipos morfológicos muy semejantes entre sí, generándose con ello confusiones a nivel taxonómico. Las grandes variaciones en el estimado del número de especies de *Psidium* es producto de la existencia de complejos de entidades que pueden por sí mismas ser consideradas especies sencillas o grupos de especies (Bruce, Landrum y Grifo, 2003). Una de las vías más certeras para discriminar entre morfotipos muy semejantes entre sí es el análisis molecular. Al respecto, Sunnucks (2000), refiere que los organismos difieren entre sí por sus secuencias de ADN, y esas variaciones pueden ser consideradas a nivel de genes individuales o genotipos. La gran aplicación de las técnicas moleculares es la posibilidad de detectar pequeñas diferencias con un alto nivel de resolución.

Gadek *et al.*, (1996), presentaron el primer análisis molecular en Myrtaceae usando la región *matK* del genoma plastidial; el estudio estuvo dirigido a dilucidar la posición de *Heteropyxis* y *Psiloxylon*, considerados géneros monotípicos dentro de la familia. Se determinó que *Syzygium* formó un grupo con el género asiático *Acmena*, y se separó del grupo de frutos carnosos de Suramérica, contribuyendo a la hipótesis que éstos han surgido más de una vez en las Mirtáceas. Otra de las principales implicaciones taxonómicas a las que llegaron con sus análisis, fue la determinación de que existe un fuerte soporte para la monofilia del grupo Myrtoideo, excluyendo a *Syzygium*.

Wilson *et al.*, (2001), se plantearon el objetivo de integrar los caracteres morfológicos para definir las relaciones entre géneros y tribus de Mirtáceas con una matriz de taxones complementarios que incluía secuencias moleculares de *matK*, realizando un estudio crítico de los caracteres comúnmente utilizados para

determinar afinidades en la familia. Los resultados determinaron que los datos de caracteres morfológicos produjeron sólo resoluciones limitadas en las interrelaciones. El análisis de los datos combinados resultó fuertemente soportado en base a datos moleculares. Los estimados de la filogenia revelaron una amplia homoplasia dentro de la familia en el rango de caracteres no moleculares, incluyendo madera, frutos y caracteres florales.

Udovic y Ladiges (2000), consideran las regiones ITS de ADN nuclear y *trnH-psbA* de ADN plastidial como algunas de las más variables para análisis filogenéticos en Mirtáceas. Así Lucas *et al.*, (2005), en un estudio filogenético con representantes de Myrteae, empleando secuencias de éstas regiones para evaluar la monofilia de la tribu y subtribus y las relaciones de los géneros que las conforman, determinaron entre otros hallazgos que las especies de *Psidium* se agruparon en un clado con un soporte alto (bootstrap=90), y que éste en conjunto con los conformados por *Campomanesia guazumifolia* y *Pimenta dioica* se hermanaron a un clado no resuelto que comprendía al resto de los taxa analizados.

Los nrITS (internal transcribed spacers) de ADN ribosómico nuclear, son ampliamente utilizados para inferencias filogenéticas; entre sus ventajas se encuentran: alto número de copias, universalidad de la secuencia del primer, el relativamente pequeño tamaño de los espaciadores y la facilidad para obtener los datos de estas regiones (Biffin *et al.*, 2007). Estos marcadores son usados especialmente para análisis de relaciones dentro de géneros o entre géneros estrechamente relacionados (Kovarík, *et al.*, 2005). También se ha establecido que el ADN de cloroplasto, se ha utilizado exitosamente en Myrtaceae para elucidar relaciones taxonómicas en categorías superiores (Gadek *et al.*, 1996).

En los análisis filogenéticos se incorporan taxa como grupos externos, con el fin de determinar cuál de dos o más estados homólogos de un carácter puede ser considerado como apomórfico y cuál como plesiomórfico (Villaseñor y Dávila, 1992). Cuando no se dispone de información de secuencias moleculares de estos grupos referenciales, tal es el caso general de los géneros americanos de

Mirtáceas, existe a disposición bases de datos que se encuentran en los bancos de secuencias moleculares para organismos vivos, como GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), a fin de poder establecer relaciones de los grupos de interés con sus pares taxonómicos.

Considerando que el occidente de Venezuela representa una región con una importante diversidad de especies del género *Psidium*, se realizó esta investigación con el objetivo de estimar las relaciones filogenéticas entre representantes de este grupo y entre taxa afines, a partir de secuencias de las regiones ITS de ADN nuclear y *trnH* y *psbA* de ADN plastidial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon muestras de *Psidium guajava* L. y *P. guineense* Sw. recolectadas en localidades de los estados Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia, siendo los taxa con mayor frecuencia en esta zona; adicionalmente se incluyó a *Calycolpus moritzianus* (O. Berg) Burret, especie predominante en los andes venezolanos. Por otro lado se consideraron muestras de *P. guineense* (MY: 09802 y 09797) y *P. acutangulum* DC. (VEN 256635) tomadas de ejemplares herborizados a fin de establecer comparaciones con especímenes provenientes de otras regiones del país; las muestras de *P. guineense* se recolectaron en el estado Aragua y las de *P. acutangulum* de Apure; también, se incluyó en el análisis a *P. friedrichsthalianum* (O. Berg) Nied., recolectada en el municipio Mara, estado Zulia, que a pesar de ser una especie introducida, no reportada para el país (Bruce, 2008), ha sido difundida en este estado por su posible uso como portainjerto de *P. guajava*.

Como especies hermanas se incorporaron *P. cinereum* DC. (AM489877) y *P. cattleianum* Sabine (AM489878), cuya secuencias moleculares se extrajeron de GenBank. Mientras que como grupos externos, se integraron otros géneros de Mirtáceas a los cuales se les habían realizado estudios filogenéticos previos: *Calyptranthes lanceolata* O. Berg (AM489818), *Campomanesia pubescens* (Cambess.) O. Berg (AM489822), *Eugenia sulcata* Spring ex Mart. (AM489829), *Luma chequen* (Molina) A. Gray. (AM489844), *Marlierea eugeniopsoides* (D. Legrand & Kausel) D. Legrand (AM489845), *Myrceugenia planipes* Hooker et Arnott (AM489851), *Pimenta dioica* (L.) Merr. (AM489874). En total se incorporaron al análisis catorce especies, destinando para los individuos de recién recolecta y para los herborizados tres réplicas de cada uno, en caso de requerirse una nueva extracción de ADN.

Es importante mencionar que el número de individuos que se consideró inicialmente fue mayor, donde se incluían otras especies de *Psidium* reportadas para el occidente de Venezuela, cuyas muestras se extrajeron de ejemplares herborizados depositados en herbarios nacionales (VEN, MY, MER, HERZU) y en

el herbario nacional de México (MEXU); no obstante, no pudieron ser incluidas en el análisis debido a la degeneración del ADN, lo cual se comprobó al practicar pruebas electroforéticas.

El ADN genómico fue extraído de hojas maduras, con un buen estado fitosanitario, secadas con sílica gel (Chase & Hills, 1991), y de fragmentos de hojas de especímenes de herbario, colocando pequeñas porciones de las mismas en un mortero con nitrógeno líquido. De las muestras pulverizadas se extrajo el ADN total utilizando una solución Buffer 2X CTAB (Doyle y Doyle, 1987).

Se amplificó la región ITS del genoma nuclear (espaciadores ITS4 e ITS5) y la región *trnH-psbA*, del genoma plastidial mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando kits comerciales, incluyendo PCR Master Mix (Advanced Biotechnologies, Epsom, Surrey, UK) y Taq PCR Core Kit (Qiagen), según los protocolos del fabricante. A cada tubo con reacción de PCR se le agregó 1 % de cada primer ($100 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) y 2-4 % de una solución acuosa de suero de albúmina de bovino (BSA) para neutralizar los compuestos fenólicos y otros inhibidores potenciales (Kreader, 1996). Las condiciones de la reacción fueron las siguientes: primera desnaturalización a 94°C por 2 min, segunda desnaturalización a 94°C por 1 min, "Annealing" (Hibridación o emparejamiento) a 52°C por 1 min, primera extensión a 72°C por 1 min, extensión final a 72°C por 7 min; el número de ciclos fue igual a 30. El producto final de PCR se inyectó en un gel de agarosa y colocado en una cámara de electroforesis para confirmar su amplificación.

Las secuencias y referencias de los iniciadores se presentan a continuación:

Primer ITS4: 5'TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC3' (White *et al.* 1990)

Primer ITS5: 5'GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G3' (White *et al.* 1990)

Primer *trnH*: 5'CGC GCA TGG TGG ATT CAC AAT CC3' (Tate y Simpson, 2003)

Primer *psbA*: 5'GTT ATG CAT GAA CGT AAT GCT C3' (Sang *et al.* 1997)

La secuenciación del ADN se llevó a cabo según procedimiento de Salazar *et al.*, (2003).

En todas las regiones del ADN analizado, ambas bandas fueron secuenciadas, editadas y ensambladas con Sequencher versión 3.1 a 4.6 (GeneCodes Corp.). El alineamiento de las secuencias se llevó a cabo por inspección visual, comparando con secuencias obtenidas por Salazar *et al.*, (2003), procurando la máxima similaridad de la secuencia (Simmons, 2004). No se incluyeron los datos que presentaron ambigüedades en la alineación y los espacios sin información en las secuencias fueron tratados como datos perdidos.

La filogenia se realizó mediante un análisis de parsimonia con el programa PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony), versión 4.02b para Macintosh (Swofford, 2002), que consistió de una prueba heurística con 1000 secuencias aleatorizadas de los taxa para calcular los árboles iniciales, buscando árboles más cortos mediante rearrreglo de ramas con la opción Tree bisection-reconnection (TBR) y salvando hasta 20 de estos árboles por cada réplica. Todos los caracteres se trataron como no ordenados y se les asignó el mismo peso. El apoyo interno para los clados (robustez) fue evaluado mediante 300 réplicas de bootstrap (Felsenstein, 1985), cada una consistente en 20 réplicas de búsqueda heurística con TBR y guardando hasta 20 árboles más cortos por repetición heurística. Varias resoluciones alternativas fueron examinadas por medio de la opción "Constraints" de PAUP, para forzar la monofilia de grupos específicos que permitieran examinar los efectos sobre la longitud de los árboles y los índices de Consistencia y Retención.

RESULTADO

Se analizaron todas las secuencias resultantes de ITS y de *trnH-psbA* de forma individual y de modo combinado, este último bajo dos modalidades: en primer lugar, eliminando las secuencias de ITS y *trnH-psbA* que no correspondiera al mismo ejemplar, colocando signos de interrogación en la porción faltante respectiva, ya sea ITS o *trnH-psbA*, y en segundo lugar, excluyendo todos los ejemplares con secuencias incompletas ya sea ITS o de *trnH-psbA*. El análisis donde se eliminaron las secuencias incompletas fue donde se obtuvieron los árboles con mayor consistencia, por lo cual se seleccionó uno de los 678 cladogramas y el de consenso estricto para la interpretación de los resultados (Figuras 1 y 2, respectivamente).

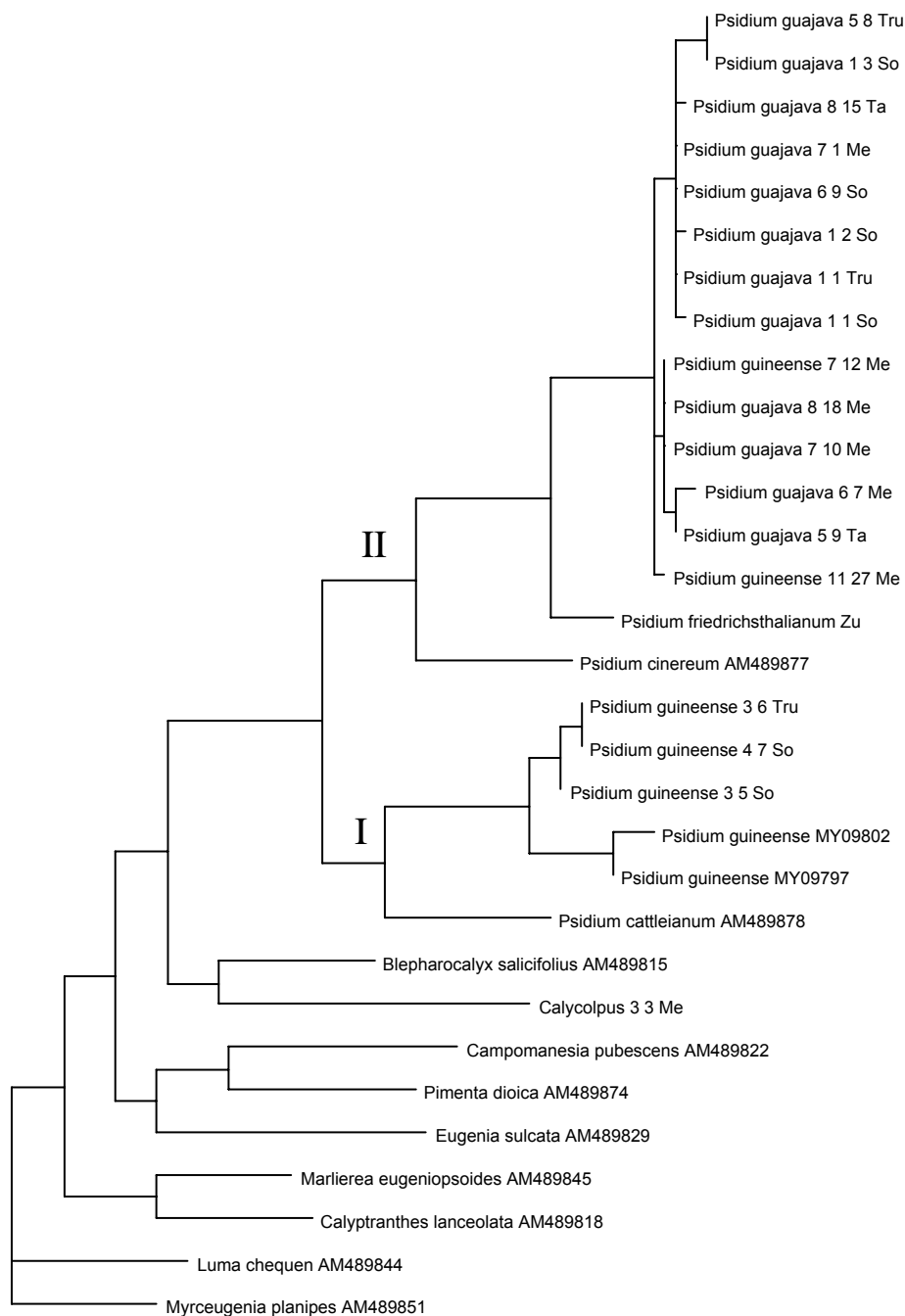


Figura 1. Uno de los 678 cladogramas más parsimoniosos producidos por la búsqueda heurística en PAUP, usando secuencias de las regiones ITS y *trnH-psbA* en combinación en *Psidium* y taxa relacionados (se eliminaron ejemplares con secuencias incompletas). I y II denotan los dos clados principales.

Bootstrap

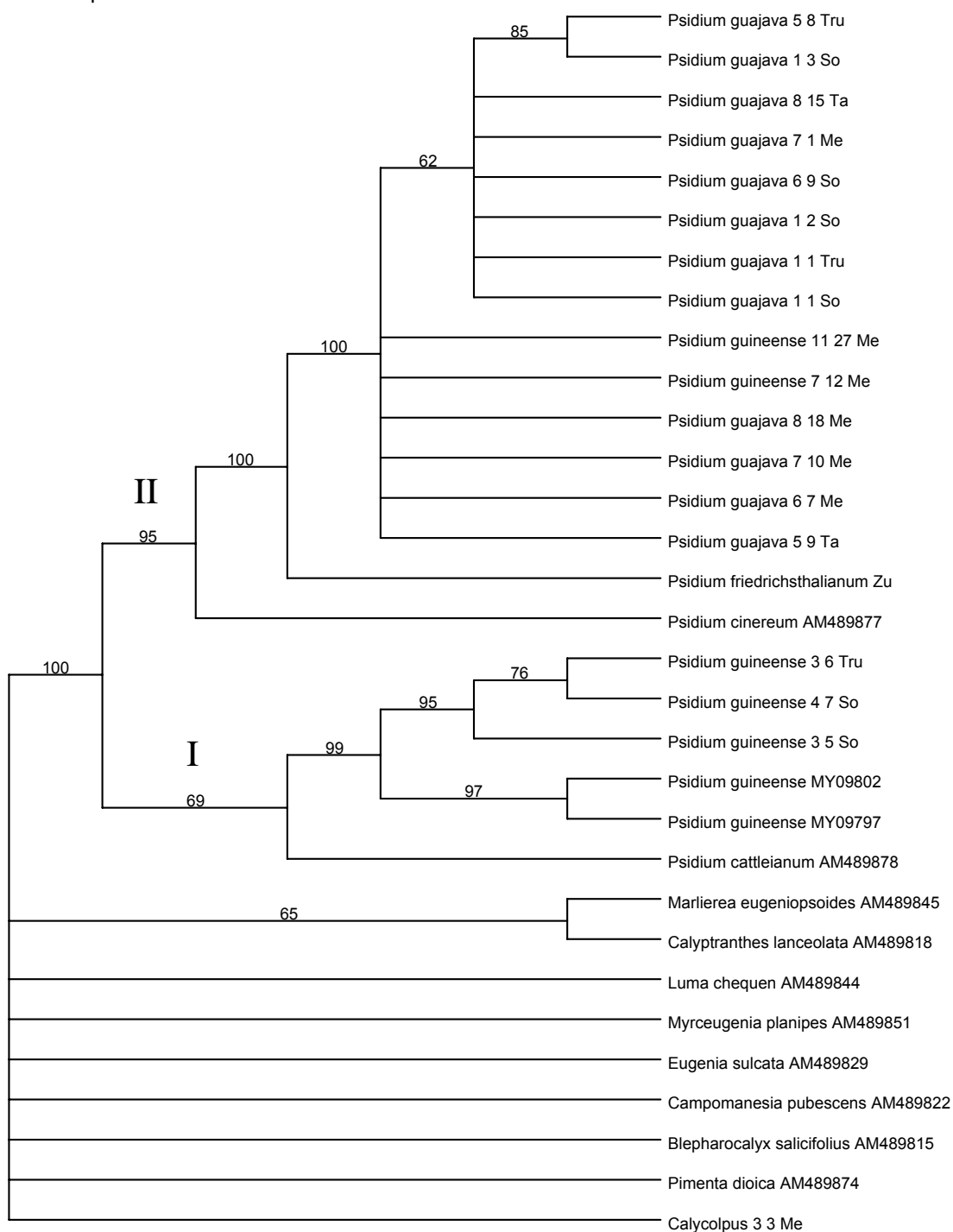


Figura 2. Árbol de consenso estricto de los 678 cladogramas más parsimoniosos producidos por la búsqueda heurística en PAUP, usando secuencias de las regiones ITS y trnH-psbA en combinación en *Psidium* y taxa relacionados (se eliminaron ejemplares con secuencias incompletas). Los porcentajes sobre las ramas indican el porcentaje bootstrap para los clados correspondientes. I y II denotan los dos clados principales.

De un total de 1282 caracteres (pares de bases), 1077 resultaron constantes, 100 resultaron no informativos o variables y 105 surgieron como filogenéticamente informativos. La búsqueda heurística retuvo 678 árboles igualmente parsimoniosos, con una longitud (L) de 344 pasos, Índice de Consistencia IC=0.6919, Índice de Retención IR= 0.8416 e Índice de Homoplasia IH= 0.3081. Uno de estos cladogramas se presenta en la Figura 1. Resultados obtenidos por encima del 50% en el bootstrap (bs), se muestran en el árbol de consenso estricto (Figura 2).

Tanto en el cladograma como en el árbol de consenso estricto se evidencia que todas las especies analizadas y consideradas como del género *Psidium* formaron un clado natural sustentado por un bs de 100%, a su vez separadas en dos clados principales (ver números I y II en Figuras 1 y 2).

El clado I constituido por *P. guineense* y *P. cattleianum*, está apoyado por un bs de 69%, con las ramas internas del clado conformado por 5 accesiones de *P. guineense* fuertemente apoyado (bs= 99%).

El clado II, con bs de 95%, está integrado por dos grupos, el primero conformado por 8 accesiones de *P. guajava* y bs de 62%; el segundo representado por 4 accesiones de *P. guajava* y 2 de *P. guineense* con 100% de bs. A estos grupos se unieron *P. friedrichsthalianum* y *P. cinereum* como taxa relacionados con apoyo bootstrap de 95 y 100% (Figura 2).

En la base del árbol se situó el clado constituido por las especies integradas al análisis como grupo externo (*Blepharocalix salicifolius*, *Calycolpus moritzianus*, *Campomanesia pubescens*, *Pimenta dioica*, *Eugenia sulcata*, *Marlierea eugeniopsoides*, *Calypptanthes lanceolata*, *Luma chequen* y *Myrceugenia planipes*), obteniéndose una mejor resolución de este grupo en el árbol de la Figura 1, con un porcentaje de bootstrap de 100%, en comparación con el árbol del consenso estricto.

DISCUSIÓN

La evidencia de la conformación en un solo clado de todas las especies consideradas dentro del género *Psidium* y analizadas en este estudio, se apoya en investigaciones previas como la de Lucas *et al.*, (2005), en la cual se determinó la monofilia del género *Psidium* a través de un análisis de secuencias combinadas de ITS y *trnH-psbA* aplicado a Mirtáceas de frutos carnosos. En dicho estudio se obtuvo un clado monofilético con 90% de bootstrap, conformado por especies de ese género. Así como determinaron que los integrantes de las subtribus Eugeniinae y Myrtinae, donde se encuentran algunos de los taxa incorporados en éste análisis como grupos externos, son polifiléticos, razón que explica en parte la alta politomía observada en el cladograma de la Figura 1 para este grupo.

En las Figuras 1 y 2 se puede observar que todas las accesiones de la especie *P. guajava* se concentraron en un clado, lo que permite inferir que a pesar de ser una especie cultivada no es susceptible a hibridación. No obstante, Mc Vaugh (1963), no descarta el hecho de que *P. guajava* y *P. guineense* puedan hibridarse de forma natural con la consecuente producción de individuos intermedios; es muy probable que *Psidium* x *hypoglaucum* haya resultado de la hibridación entre estas dos especies, considerando la afinidad morfológica y su común ocurrencia en hábitats disturbados donde ambos de los supuestos progenitores crecen. Muchos de los individuos de ésta llamada especie muestran una fuerte semejanza aparente a *P. guineense*, pero usualmente exhiben también algunas características de *P. guajava*, especialmente la pubescencia gris de las hojas y ramas cuadranguladas.

Tomando en cuenta los datos de distribución geográfica para explicar el agrupamiento de *P. guajava* se puede observar en las Figuras 1 y 2 que no existe un patrón definido de acuerdo a éste aspecto; así vemos como en el grupo II se reunieron todas las muestras provenientes de diversas localidades de los estados Trujillo, Mérida, Táchira y Zulia, con alturas que variaron de 110 msnm en la vía a Socopo, estado Zulia (10° 24' 32" LN, 71° 07'49" LO), hasta los 1880 msnm, correspondiente a una localidad del estado Mérida (8° 35'50" LN, 71° 13'20" LO).

Esto permite inferir que la especie posee un amplio rango de adaptación a diversos ambientes, ya que se encontró asociada a vegetaciones sabaneras, así como también a zonas montañosas de los andes venezolanos.

Otro aspecto importante a considerar fue la posición terminal que presentó *P. guajava* tanto en el cladograma como en el árbol de consenso estricto, lo cual denota el grado de evolución que posee la especie en comparación con los otros taxa analizados. Mc Vaugh (1968) relaciona ciertos patrones de floración con mecanismos de especialización a través de la evolución de Myrtinae; refiere que en todas las Myrteae americanas la flor solitaria es subtendida por un par de bractéolas, es decir la ramificación axilar en su primer nudo termina en una flor. Las bractéolas representan las hojas en este nudo. En muchas especies esta habilidad parece haberse perdido, en otras es facultativo. Partiendo de que el patrón básico de un pedicelo floral subtendido por dos bractéolas es común en todas las especies, puede ser asumido que aquellas plantas que presentan una flor solitaria es característico de las Myrteae primitivas, y que los otros tipos de inflorescencias han sido producto de la evolución a través de cambios en el arreglo de las flores sobre las ramas. Es probable incluso encontrar flores solitarias y dicasios de 3 flores en diferentes axilas de una misma planta; éste último aspecto se pudo constatar cuando se comparó morfológicamente a *P. guajava* y *P. guineense*, determinándose que éstas especies se diferenciaron entre otros caracteres por el tipo de inflorescencia; *P. guajava* presentó flores solitarias, cimas bíparas o ambas, mientras que *P. guineense* flores solitarias o cimas bíparas, pero en ningún caso ambas (Rivero *et al.*, 2012).

De acuerdo a los estudios filogenéticos en Mirtáceas realizados por Conti *et al.*, (1997) y Lucas *et al.*, (2005), los clados más basales fueron ocupados por especies de *Leptospermum* y *Eucalyptus*, y secuencialmente los demás clados de acuerdo a las circunscripciones de las tribus Myrtinae, Eugeniinae y Myrciinae. Gomes *et al* (2009) al comparar los caracteres anatómicos con las filogenias existentes, les permitió identificar algunos rasgos que reflejan la evolución de géneros como *Psidium*, entre los que destacan células epidérmicas comunes con

paredes anticlinales sinuosas y de mayor grosor en la superficie adaxial con respecto a las de la superficie abaxial, mesófilo dorsiventral, presencia de idioblastos secretores, haz vascular semi-arqueado en la nervadura media, entre otros que constituyen estados apomórficos, en comparación con caracteres como: células epidérmicas con paredes anticlinales rectas y de menor tamaño o iguales a las de la superficie abaxial, mesófilo isobilateral, ausencia de idioblastos secretores y haz vascular casi plano, considerados como plesiomórficos y presentes en géneros como *Leptospermum* y *Eucalyptus*.

Tantawy (2004), realizó una investigación donde se evaluaron aspectos morfoanatómicos para comparar entre sí algunos géneros de Mirtáceas; considerando 54 caracteres a través de un análisis cluster determinó que la especie *Psidium guajava* conformó una serie separada del resto de los taxa estudiados (*Callistemon*, *Malaleuca*, *Eucalyptus* y *Eugenia*); en el fenograma las especies estudiadas presentaron un alto promedio de distancia taxonómica.

Tanto en el árbol de la Figura 1 como en el del consenso estricto la especie *P. guineense* se agrupó en los dos clados principales; esto puede tener diversas interpretaciones si se consideran ciertos aspectos. En primer lugar, es muy probable que este patrón de agrupamiento se deba a una incorrecta identificación de las muestras recolectadas en campo, considerando que *P. guajava* y *P. guineense* son especies muy cercanas entre sí, compartiendo diversas características en común y hábitats similares. En el estudio de Rivero *et al.* (2012) que comparó características morfológicas entre especies de *Psidium*, a través un análisis de conglomerado se determinó que *P. guajava* y *P. guineense* se reunieron en un grupo, debido a que compartían características en común tales como: hojas erectas, relación largo/ancho de la hoja media o baja, curvatura del nervio medio ausente y 4 ó 5 sépalos; mientras que las diferencias morfológicas surgieron al comparar caracteres como el grado de pubescencia de las hojas, siendo densa en el envés y media en el haz para *P. guajava* y media o densa en el envés y esparcida en el haz para *P. guineense*. Otra diferencia fue la relacionada con el número de pares de nervaduras, donde en *P. guineense* fue

menor a 10 pares o entre 10 a 16 pares en algunos casos, y *P. guajava* presentó más de 16 pares de nervaduras; igualmente difirieron en cuanto la presencia de estípulas que fueron persistentes en *P. guineense* y caedizas en *P. guajava*.

De acuerdo a Mc Vaugh (1963), *P. guajava* y *P. guineense* causan a menudo confusión en la identificación a nivel de herbario. Ordinariamente las dos pueden ser diferenciadas por el número promedio de venas en las hojas, por el grado de inclinación de las venas laterales y por la prominencia de las venas pequeñas en las hojas de especímenes secos. Adicionalmente, según el autor, una característica útil puede ser el número de flores, el cual es sólo una en *P. guajava* y siempre tres en *P. guineense*. Otro caracteres distinguibles son los brotes grandes y cerrados de *P. guajava* y el largo pedúnculo de *P. guineense*.

Por otro lado, no se debe dejar de considerar que la especie *P. guineense* comparta un ancestro común; al respecto, Salywon *et al.*, (2002), quienes realizaron un estudio molecular en taxa de Myrtinae tropicales americanas, indicaron que *Psidium* puede ser parafilético; no obstante, estos autores reportaron problemas con ramas de corta longitud en árboles filogenéticos, así como bajos porcentajes de bootstrap.

Según Bruce, Landrum y Grifo (2003), existen discrepancias en cuanto al número de especies de *Psidium* y su circunscripción, lo cual puede deberse a la existencia de complejos de entidades que pueden por sí mismas ser consideradas especies sencillas o grupos de especies, tal como es el caso de los complejos conformados por *P. guineense* y *P. salutare*. Mc Vaugh, (1968), señala que *P. guineense* es el grupo más dispersado y taxonómicamente más complejo del género *Psidium*. A él se han asociado las especies *P. molle*, *P. costa-ricense*, *P. schiedeanum*, *P. laurifolium*, *P. monticola*, *P. rotundifolium*, *P. schippii* y *Guajava mollis*.

En las Figuras 1 y 2 se puede observar que *P. guineense*, a excepción de dos muestras del estado Mérida agrupadas con *P. guajava*, las cuales pueden estar mal identificadas, formó dos subgrupos en el grupo I, el primero con

muestras provenientes de Trujillo y de la localidad de Socopo en el estado Zulia, y el otro con las identificadas como MY 09802 y MY 09797, ambas de especímenes herborizados recolectados en Villa de Cura, estado Aragua. En el primer agrupamiento la amplitud altitudinal no fue tan grande, el lugar de recolección en Socopo (Vía “El Pensado-Churugarita”), está a 140 msnm (10° 28’21” LN, 71° 02’36” LO), mientras que en Trujillo (Sector Agua Santa), la altura registrada fue de 110 msnm (09° 31’37” LN, 70° 40’06” LO). Estas observaciones preliminarmente permiten apoyar lo reportado en la literatura donde se ha expuesto que *P. guineense* crece en áreas disturbadas, sabanas y bosques de galerías, sobre todo en elevaciones medias (Bruce, Landrum y Grifo, 2003).

En cuanto a las otras especies de *Psidium* en las Figuras 1 y 2 se puede observar a *P. friedrichsthalianum* y *P. cinereum* en posición intermedia a los dos clados principales conformados por *P. guajava* y *P. guineense*, y a la especie *P. cattleianum* compartiendo el clado I con *P. guineense*.

Psidium friedrichsthalianum se puede encontrar en los márgenes de ríos, en pastizales y tierras bajas en general (Mc Vaugh, 1963); actualmente se evalúa su potencialidad como porta-injerto de *P. guajava* por su tolerancia a nemátodos del género *Meloidogyne* (Molero *et al.*, 2006), específicamente en la región nor-occidental del estado Zulia-Venezuela; sin embargo, se conducen investigaciones a fin de precisar algunos aspectos relacionados con el crecimiento y desarrollo de la planta y con la calidad del fruto derivado de la combinación de éstas dos especies, así como la comprobación de una completa compatibilidad. Es importante destacar que las muestras de *P. friedrichsthalianum* que se incorporaron al análisis se recolectaron de un campo experimental ubicado en el municipio Mara del estado Zulia, con una altitud muy próxima al nivel del mar.

Con respecto a *P. cinereum* Bruce, Landrum y Grifo (2003) destacan que es una especie muy variable y generalizada, cuyo rango de dispersión va desde Venezuela al sureste de Brasil, pero igualmente predomina en sabanas, entre 50 a 500 msnm.

En relación a *P. cattleianum*, según Mc Vaugh (1963), es nativa de las tierras bajas del este de Brasil, específicamente cerca de la costa de Paraná a Sao Paulo; son plantas usualmente glabras, pero cuando cultivadas son siempre pubescentes y las hojas algunas veces sugieren por su tamaño y forma una posible mezcla de genes con *P. sartorianum*. *P. cattleianum* se ubicó en un clado con *P. guineense*, muy probablemente por compartir hábitats similares y al igual que *P. cinereum* es una especie muy dispersada y frecuente en diversos ambientes.

Todo lo anteriormente expuesto, permite inferir que uno de los principales aspectos que determinan las diferentes asociaciones entre las especies mencionadas, es su origen tropical y la consecuente adaptación a los diversos hábitats propios de estas latitudes, lo cual se traduce a caracteres moleculares.

En el árbol de la Figura 1, *Myrceugenia* se ubicó al pie del árbol, porque probablemente es la más primitiva de las Mirtáceas analizadas. Según Landrum (1981), la historia hipotética de *Myrceugenia* indica que el género fue ya algo diversificado en el período Oligoceno-Mioceno, algunos 20-30 millones de años. Este período tan largo es consistente con la posición filogenética anómala del género dentro de la familia Myrtaceae. Mc Vaugh (1968), interpreta a *Myrceugenia* como una rama precoz dentro del grupo de las protoMirtáceas, y permite presumir que el género es un miembro primitivo de las Myrceiinae.

En los estudios filogenéticos basados en datos moleculares conducidos por Lucas *et al.*, (2005) y Wilson *et al.*, (2001), los clados más basales también fueron ocupados por *Calypttranthes*, *Marlierea* y *Luma*, coincidiendo con la posición que ocuparon en esta investigación (Figura 1). Por otro lado, los géneros *Campomanesia* y *Pimenta* en el árbol de consenso estricto no obtuvieron resolución, así como *Campomanesia* y *Blepharocalyx* que emergieron separadamente (Figura 2), lo cual coincidió con la investigación de Lucas *et al.*, (2005).

Dentro del grupo externo *Blepharocalix* y *Calycolpus moritzianus* fueron las especies que más se aproximaron a *Psidium* (Figura 1). Según Landrum y Sharp

(1989), *Calycolpus* está estrechamente relacionado con *Psidium*, acordando que es el que mejor “dibuja” la línea de separación entre *Psidium* y *Myrtus*. Este género se puede distinguir de otros como *Campomanesia*, *Myrtus* y *Psidium* por sus sépalos, los cuales son visibles en la yema floral, mientras que en *Psidium* forman un cáliz cerrado (Mc Vaugh, 1968). De acuerdo a Pérez-Cortéz (2007) la amplitud altitudinal en *Calycolpus* oscila entre 70 y 2350 msnm; en Venezuela existen seis especies presentes principalmente en los estados Amazonas y Bolívar, donde solo *C. moritzianus* está reportado para los Andes venezolanos. Algunas especies de *Psidium* han pasado a formar parte de géneros como *Mosiera* y *Calycolpus*, a éste último se integraron cuatro especies de *Eugenia* y una de *Psidium*: *P. caudatum*.

CONCLUSIONES

Las especies de *Psidium* seleccionadas para este estudio conformaron un clado natural, apoyando parcialmente investigaciones previas donde se reporta monofilia para éste género, esta agrupación se explicó basándose en algunos caracteres morfoanatómicos y de distribución geográfica. Resta precisar la posición de algunas especies como *P.guineense*, a fin de aplicar estos hallazgos en futuros programas de selección y mejoramiento genético con fines agronómicos. Para ello, es necesario el estudio de otras regiones de ADN, relacionándolas con fuentes de información que pudieran ayudar a la interpretación de los resultados.

En los fenogramas obtenidos la especie *P. guajava* y en general el género *Psidium* se ubicó en una posición terminal, lo cual es indicativo de la evolución del grupo en comparación con los otros taxa analizados, mientras que, algunas de las especies incorporadas al análisis como grupos externos representaron los clados más basales coincidiendo con lo reportado en estudios previos.

Finalmente, se recomienda incorporar otras especies de *Psidium* que se distribuyen en Venezuela para completar el análisis del género para el país, considerando la diversidad de especies silvestres existentes.

REFERENCIAS

- Biffin E, Harrington M, Crisp M, Craven L y Gadek P (2007) Structural partitioning, paired-sites models and evolution of the ITS transcript in *Syzygium* and Myrtaceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43: 124-139.
- Bruce H, Landrum L y Grifo F (2003) Myrtaceae-Plumbaginaceae. 1-99 pp. *En: Flora of the Venezuelan Guayana*. Berry P, Holst B y Yatskievych K (Eds.). Missouri Botanical Garden Press., Oregon. Vol. 7.
- Bruce H (2008) Myrtaceae. *En: Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela*. Hokche O, Berry P y Hubber O (Eds.). Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. 859 p.
- Conti E, Litt A, Wilson P, Graham S, Briggs B, Johnson L y Systma K (1997) Interfamilial relationships in Myrtales: molecular phylogeny and patterns of morphological evolution. *Systematic Botany* 22: 629-647.
- Chase M y Hills H (1991) Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. *Taxon* 40: 215-220.
- Doyle JJ y Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*. 19: 11-15.
- Felsenstein J (1985) Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*. 39: 783-791.
- Gadek P, Wilson A y Quinn C (1996) Phylogenetic reconstruction in Myrtaceae using matK, with particular reference to the position of *Psiloxylon* and *Heteropyxis*. *Australian Systematic Botany*. 9: 283-290.
- Gomes S, Somavilla N, Gomes-Bezerra k, Do Couto S, De-Carvalho P y Graciano-Ribeiro D (2009) Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomía e filogenia. *Acta Botanica Brasilica*. 23: 223-238.

Kreader C (1996) Relief of amplification inhibition in PCR with bovine serum albumin or T4 gene 32 protein. *Applied and Environmental Microbiology* 62: 1102-1106.

Kovarik A, Pires J, Leitch A, Lim K, Sherwood A, Matyasek R, Rocca J, Soltis D y Soltis P (2005) Rapid concerted evolution of nuclear ribosomal DNA in two *Tragopogon* allopolyploids of recent and recurrent origin. *Genetics* 169: 931-944.

Landrum L (1981) A monograph of the genus *Myrceugenia* (Myrtaceae). *Flora Neotrop. Monogr.* 29: 1-137.

Landrum L y Sharp W (1989) Seed coat characters of some American Myrtinae (Myrtaceae): *Psidium* y related genera. *Systematic Botany* 14: 370-376.

Lucas E, Belsham S, Nic Lughadha E, Orlovich D, Sakuragui C, Chase M y Wilson P (2005) Phylogenetic patterns in the fleshy-fruited Myrtaceae- preliminary molecular evidence. *Plant Systematic and Evolution*. 251: 35-51.

Mc Vaugh R (1963) Tropical American Myrtaceae, II, Notes on generic concepts and descriptions of previously unrecognized species. *Fieldiana* 29: 393-532.

Mc Vaugh R (1968) The genera of American Myrtaceae- An Interim report. *Taxon* 17: 354-415.

Molero T, Molina J y Casassa-Padrón A (2006) Cariotipo de selecciones de *Psidium* tolerantes y resistentes a *Meloidogyne incognita*. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas* 40: 149-166.

Pérez-Cortéz S (2007) Géneros *Calycolpus*, *Calycorectes* y *Myrciaria* (Myrtaceae) en el Herbario Nacional de Venezuela (VEN). *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 24. Supl. 1: 196-201.

Rivero G, Pacheco D, Fuenmayor J, Sánchez A, Quirós M, Ortega J, Bracho B, Taborda J (2012) Análisis morfológico de especies de *Psidium* (Myrtaceae) presentes en Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* 29: 72-103.

Salazar G, Chase M, Soto M e Ingrouille M (2003). Phylogenetics of Cranichideae with emphasis on Spiranthinae (Orchidaceae, Orchidoideae): evidence from plastid and nuclear DNA sequences. *American Journal of Botany* 90: 777-795.

Salywon A, Snow N y Landrum L (2002) Phylogenetic relationships of the berry fruited Myrtaceae as inferred from ITS sequences. An abstract presented at the Botany 2002 conference, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin.

Sang T, Crawford D y Stuessy F (1997) Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae). *American Journal of Botany* 84: 1120–1136.

Simmons M (2004) Independence of alignment and tree search. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 31: 874-879.

Sunnucks P (2000) Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology and Evolution, Cambridge* 15: 199-203.

Swofford D L (2002). PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.

Tantawy M (2004) Morpho-anatomical study on certain taxa of Myrtaceae. *Asian Journal of Plant Science* 3: 274-285.

Tate J y Simpson B (2003) Paraphyly of *Tarasa* (Malvaceae) and diverse origins of the polyploid species. *Systematic Botany* 28: 723–737.

Udovic F y Ladiges P (2000) Informativeness of nuclear and chloroplast DNA regions and the phylogeny of the eucalypts and related genera (Myrtaceae). *Kew Bulletin*. 55: 663-645.

Villaseñor J y Dávila P (1992) *Breve Introducción a la Metodología Cladística*. Instituto de Biología UNAM, Departamento de Botánica, México DF. 48 p.

White T, Bruns T, Lee S y Taylor J (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322 In: PCR Protocols: A

Guide to Methods and Applications, eds. Innis M, Gelfand D, Sninsky J y White T. Academic Press, Inc., New York.

Wilson P, O'Brien M, Gadek P y Quinn C (2001). Myrtaceae revisited: A reassessment of infrafamilial groups. *American Journal of Botany* 88 (11):2013-2025.

ANEXOS

Anexo 1. Protocolo utilizado para la extracción de ADN de especies de *Psidium* y taxa relacionados.

Extracción de ADN total, incluyendo material fresco, secado en sílice y ejemplares de herbario, usando una modificación del procedimiento del 2× CTAB descrito en Doyle y Doyle (1987. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15).

Gerardo A. Salazar, marzo de 2007.

Para preparar 100 ml de buffer de extracción 2× CTAB con PVP:

10 ml de tris-HCl 1 M (preferiblemente pH 8, pero pH 7.40 funciona también).

8.18 g de NaCl.

0.7448 g de EDTA.

2 g de CTAB

2 g de PVP

Aforar a 100 ml con agua doble-distilada autoclavada (o agua inyectable, preferentemente autoclavada).

Nota: disolver primero el CTAB en una porción del volumen de agua agitando vigorosamente. Calentar a 65° C facilita la disolución.

Para efectuar la extracción:

Inmediatamente antes de empezar la extracción, añadir al buffer de CTAB 0.4% de 2-mercaptoetanol (es decir, 4 µl de mercapto por 1 ml de CTAB) y precalentar la mezcla a 65° C. Se va a utilizar 500 µl de buffer por muestra.

Poner el tejido en un mortero limpio y de preferencia esterilizado (20 min de remojo en clorox o cloralex 20%, incluyendo la mano) y agregar el suficiente nitrógeno líquido para permitir el congelamiento completo de la muestra; al menos hasta la mitad del mortero (dependiendo del tamaño del mortero).

Una vez que el nitrógeno ha hervido hasta evaporarse por completo, inmediatamente moler la muestra hasta un polvo fino. Con una espátula limpia transferir una pequeña cantidad del polvo a un tubo de 1.5 ml (lo suficiente para llenar 3-4 mm del fondo del tubo) y agregar 500 µl del buffer de CTAB caliente.

Homogeneizar bien usando una "minimano" esterilizada

Incubar a 65° C durante ~~30~~ 36 min.

Continuación anexo 1.

Extraer con 500 µl de SEVAG (cloroformo:alcohol isoamilico 24:1), mezclando **suavemente** invirtiendo el tubo y dejar escapar el gas; extraer durante ~~30~~ **36** min mezclando varias veces con suavidad.

Centrifugar a 9.000 RPM durante 10 min y transferir la fase acuosa (superior) a un Eppendorf limpio y adecuadamente etiquetado (el ADN será almacenado permanentemente en este tubo). Cuidar de no pipetear la fase aceitosa ni los sólidos!

Precipitar con 2/3 el volumen (e.g., 350 µl si se obtuvieron 500 µl de extracto) de isopropanol (2-propanol) preenfriado a -20°C , invirtiendo **suavemente** el tubo varias veces para mezclar hasta observar la precipitación como un enturbiamiento de la mezcla extracto-alcohol. Dejar reposar a -20°C durante una hora o hasta el día siguiente; en caso de muestras de herbario se puede prolongar el reposo hasta 1-2 semanas para incrementar la precipitación.

Centrifugar a 13,000 RPM durante 5 min y descartar el líquido.

Agregar 500 µl de etanol al 70% y centrifugar a 13.000 RPM durante 3 min. descartar el alcohol (cuidando de no perder el precipitado) y secar el precipitado en la centrifuga de vacío (4 min son generalmente adecuados) o protegido de la luz y el polvo al aire durante 2-3 hr. En caso de que el extracto estuviera muy sucio o aceitoso, repetir la centrifugación con etanol nuevo antes de secar.

Resuspender el precipitado ya seco en 50-100 µl de buffer TE (bajo en EDTA) pH 8.3 a temperatura ambiente o precalentado a 65°C . Mezclar bien y mantener a 20°C (o a $-70/-80^{\circ}\text{C}$ si es por periodos prolongados). Esta solución puede usarse directamente para amplificación una vez descongelada

Anexo 2. Una de las reacciones de PCR realizadas en especies de *Psidium* y *C. moritzianus*, utilizando la combinación de primers AB101-ITS4.

Reacción de PCR (ITS) No.: 2 Nombre: G. solo / Gerardo

Condiciones: 52°C Fecha: 06/10/09

No.	Especie	ID/voucher	vol. ADN	Comentarios
1	<i>Calyculpus</i> (loc 7-12-Te)	loc 7-12-Te	✓	ITS4 + AB101F
2	<i>P. guajare</i>	loc 8-15-Te	✓	✓
3	<i>P. guajare</i>	loc 9-18-Te	✓	✓
4	<i>P. guajare</i>	loc 5-9-Te	✓	✓
5	<i>P. guajare</i>	loc 4-7-Te	✓	✓
6	<i>P. guajare</i>	loc 1-1-Te	✓	✓
7	<i>P. guajare</i>	loc 5-8-Te	✓	✓
8	<i>P. guajare</i>	loc 3-6-Te	✓	✓
9	<i>P. guajare</i>	2U	✓	✓
10	<i>P. guajare</i>	loc 10-24-So	✓	✓
11	<i>P. guajare</i>	loc 1-1-So	✓	✓
12	<i>P. guajare</i>	loc 6-10-So	✓	✓
13	<i>P. guajare</i>	loc 1-2-So	✓	✓
14	<i>Calyculpus</i>	loc 9-21-Me	✓	9-21-Me
15	<i>P. guajare</i>	loc 10-Me	✓	✓
16	<i>P. guajare</i>	loc 5-5-Me	✓	✓
17	<i>P. guajare</i>	loc 7-10-Me	✓	✓
18	<i>P. guajare</i>	loc 8-18-Me	✓	✓
19	<i>P. guajare</i>	loc 6-7-Me	✓	✓
20	<i>P. guajare</i>	loc 7-1-Me	✓	✓
21	<i>Calyculpus</i>	loc 3-9-Me	✓	✓
22	<i>P. guajare</i>	loc 3-5-So	✓	✓
23	<i>P. guajare</i>	loc 3-12-Me	✓	✓
24	Control			

Cálculo de la reacción:

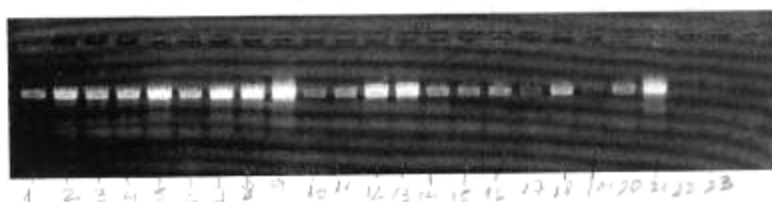
H ₂ O	19.375 µl	× 25	= 484.375
10x	2.5 µl	× "	= 62.5
BSA	1 µl	× "	= 25
Dntp	0.5 µl	× "	= 12.5
ITS5	0.25 µl	× "	= 6.25
ITS4	0.25 µl	× "	= 6.25
MgCl ₂	0.5 µl	× "	= 12.5
DMSO	0.5 µl	× "	= 12.5
Taq	0.125 µl	× "	= 3.125

Detalles del programa:

Desnaturalización	94°C	2 min
Desnaturalización	94°C	1 min
"Annealing"	52°C	1 min
Extensión	72°C	1 min
Extensión final	72°C	7 min
Número de ciclos	=	30

Comentarios:

Fotos del gel:



Anexo 3. Una de las reacciones de PCR realizadas en especies de *Psidium* y *C. moritzianus*, utilizando las combinaciones de primers AB101-ITS4 y *trnH-psbA*.

Mypt/

Reacción de PCR (ITS) No.: 1 Nombre: Gisela / Gervasio

Condiciones: 52°C Fecha: 3/10/09

No.	Especie	ID/voucher	vol. ADN	Comentarios
1	<i>P. guianense</i>	loc 6-9-50		AB101F + ITS4
2	<i>P. guianense</i> ✓ K26	loc 4-7-50		"
3	<i>P. guianense</i> ✓ PC66	loc 1-3-50		"
4	<i>C. moritzianus</i> ✓ PC66	loc 3-3-M6		"
5	<i>P. guianense</i>	loc 7-1-M6		"
6	<i>P. guianense</i>	loc 11-27-M6		"
7	CONTROL	—	—	"
8	<i>P. guianense</i>	loc 6-9-50		<i>trnH F - psbA</i>
9	<i>P. guianense</i>	loc 4-7-50		"
10	<i>P. guianense</i>	loc 1-3-50		"
11	<i>C. moritzianus</i>	loc 3-3-M6		"
12	<i>P. guianense</i>	loc 7-1-M6		"
13	<i>P. guianense</i>	loc 11-27-M6		"
14	CONTROL	—	—	"
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				

Cálculo de la reacción:

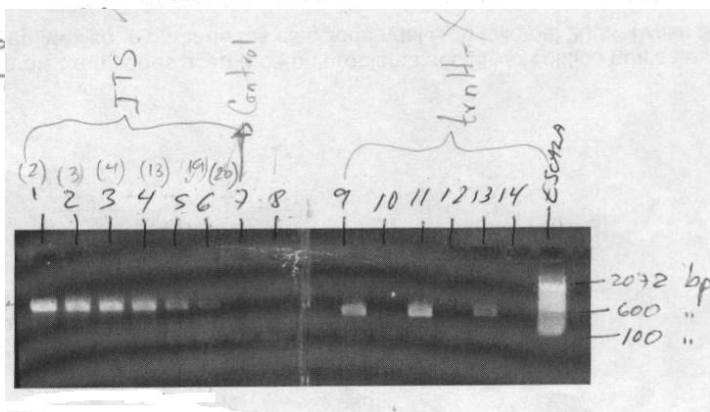
H ₂ O	19.375 µl	x 7.2 =	139.5
10x	2.5 µl	x " =	10
BSA	1 µl	x " =	1.2
Dntp	0.5 µl	x " =	3.6
Primer F _{ITS}	0.25 µl	x " =	1.8
Primer R _{ITS4}	0.25 µl	x " =	1.8
MgCl ₂	0.5 µl	x " =	3.6
DMSO	0.5 µl	x " =	3.6
Taq	0.125 µl	x " =	0.99

Detalles del programa:

Desnaturalización	94°C	2 min
Desnaturalización	94°C	1 min
"Annealing"	52°C	1 min
Extensión	72°C	1 min
Extensión final	72°C	7 min
Número de ciclos	=	30

Comentarios: *Programa ITS-5*

Fotos del gel:



Anexo 4. Una de las reacciones de PCR realizadas en especies de *Psidium* y *C. moritzianus*, utilizando las combinaciones de primers ITS4-ITS5.

Reacción de PCR (ITS) No.: 5 Nombre: Gerardo / Gisela
 Condiciones: (Reamplificación) Fecha: 12/10/09

No.	Especie	ID/voucher	vol. ADN	Comentarios
1	<i>P. guineense</i>	Hy-09959		ITS4 + ITS5
2	<i>P. guineense</i> ✓	Hy-099788		"
3	<i>P. dentatum</i> ✓	Hy-256635		"
4	<i>P. dentatum</i>	Hy-304863		"
5	<i>P. maibense</i> ✓	Hy-325908		"
6	<i>P. sataianum</i>	Hy-308046		"
7	<i>P. salutare</i>	Hy-103298		"
8	<i>P. salutare</i>	Hy-268786	✓	"
9	<i>P. salutare</i>	Hy-103296	✓	"
10	<i>P. guianense</i>	Hy-355212	✓	"
11	<i>P. dentatum</i>	Hy-106391		"
12		Hy-353425	✓	"
13	<i>P. maibense</i>	Hy-108943	✓	"
14		Hy-357505	✓	"
15	<i>P. sataianum</i>	Hy-208042	✓	"
16	<i>P. guianense</i>	Her-045122	✓	"
17	<i>P. guianense</i>	Her-045057	✓	"
18	<i>P. guianense</i>	Her-322839	✓	"
19	<i>P. guianense</i>	Her-042824	✓	"
20	<i>P. dentatum</i>	Hy-335433	✓	"
21	<i>P. sataianum</i>	Her-045649	✓	"
22	CONTROL	—		✗
23				
24				

Cálculo de la reacción:

H ₂ O	19.375 µl	x2,5 = 48,93 ✓
10×	2.5 µl	x2,5 = 6,25 ✓
BSA	1 µl	x2,5 = 2,5 ✓
Dntp	0.5 µl	x2,5 = 1,25 ✓
ITS5	0.25 µl	x2,5 = 0,63 ✓
ITS4	0.25 µl	x2,5 = 0,63 ✓
MgCl ₂	0.5 µl	x2,5 = 1,25 ✓
DMSO	0.5 µl	x2,5 = 1,25 ✓
Taq	0.125 µl	x2,5 = 0,31 ✓

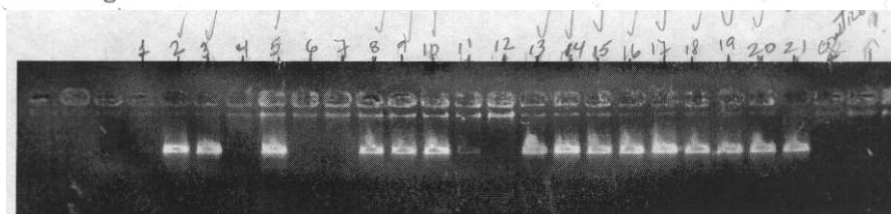
Detalles del programa:

Desnaturalización	94C°	2 min
Desnaturalización	94C°	1 min
"Annealing"	52C°	1 min
Extensión	72C°	1 min
Extensión final	72C°	7 min
Número de ciclos	=	30

Comentarios:

PCR = 24,5 µl de H₂O + 0,5 µl de ADN = 25 µl.

Fotos del gel:



CAPÍTULO VII
Tratamiento taxonómico de especies de *Psidium* del
occidente de Venezuela

RESUMEN

Se presenta el tratamiento taxonómico de especies de *Psidium* (Myrtaceae) distribuidas en el occidente de Venezuela: *P. guajava* L., *P. guineense* Sw., *P. salutare* (Kunth) O. Berg. y *P. sartorianum* (O. Berg) Nied., así como también de algunos taxa relacionados (*P. acutangulum* DC, *P. maribense* DC. y *Calycolpus moritzianus* (O. Berg) Burret), incorporados en este estudio; se consideraron caracteres morfológicos, anatómicos y fitoquímicos, complementados con datos de distribución geográfica, hábitat y usos, e ilustraciones de todas las especies estudiadas.

Taxonomic treatment of species of *Psidium* from western Venezuela

ABSTRACT

A taxonomic treatment of the species of *Psidium* distributed at western Venezuela is presented: *P. guajava* L., *P. guineense* Sw., *P. salutare* (Kunth) O. Berg. y *P. sartorianum* (O. Berg) Nied., as well as other related taxa (*P. acutangulum* DC, *P. maribense* DC. y *Calycolpus moritzianus* (O. Berg) Burret) were incorporated in this study; morphological, anatomical and phytochemicals characters were studied along with geographical distribution, kinds of habitats and usefulness of the species for mankind. Illustrations of all studied species species are given.

INTRODUCCIÓN

Los estudios taxonómicos realizados en los géneros americanos de Mirtáceas son escasos. De Candolle y Berg fueron pioneros en conducir este tipo de investigaciones, determinando un gran número de especies, especialmente en Suramérica tropical. Mc Vaugh (1968), llevó a cabo una completa descripción morfológica del género *Psidium*. Landrum y Sharp (1989) tomaron en cuenta rasgos específicos como la cubierta de las semillas para diferenciar sus especies de otros géneros relacionados. Posteriormente, Landrum y Kawasaki (1997) realizaron claves e ilustraciones para identificar especies de éste género, considerando igualmente aspectos morfológicos.

En Venezuela, los pocos estudios florísticos realizados en *Psidium* comprenden inventarios de especies agrupadas por región. Bruce *et al.* (2003), realizaron la descripción morfológica y distribución geográfica de las especies de este género en el país, sin embargo no consideraron otras fuentes de información a fin de complementar un estudio integral en torno al mismo. Sánchez y Peña (2011) realizaron un descriptor botánico de *P. friedrichsthalianum* y materiales de *P. guajava*, útil para distinguirlas morfológicamente, justificando dicho trabajo por las potencialidades agronómicas que poseen ambas especies.

Los caracteres anatómicos también se han considerado en estudios descriptivos y taxonómicos en Mirtáceas; no obstante, la mayoría constituyen trabajos aislados, donde sólo se incluye esta fuente de información; destacan aquí el trabajo de Mc Vaugh (1956), quien describió la arquitectura foliar de las especies americanas y el de Gomes *et al.*, (2009), donde se realizó un análisis anatómico comparativo de la lámina foliar en representantes de la tribu Myrteae, incluyendo a *Psidium*, objetándose el hecho de que los géneros americanos habían recibido poca atención para estudios de esta naturaleza.

También, desde el punto de vista fitoquímico, los flavonoides se han utilizado como evidencia taxonómica, no contando hasta los momentos, con

referencias de análisis de este tipo que se hayan realizado en *Psidium* para la delimitación de especies. Vargas *et al.* (2006), compararon la concentración de flavonoles (miricetina, quercetina y kaempferol) y flavonas (luteonina y apigenina) en diversos órganos de *Psidium guajava*, resaltando sus propiedades medicinales.

Con el fin de contribuir al tratamiento taxonómico del género *Psidium* en Venezuela, en este capítulo se describen seis especies de este género distribuidas en el país, de las cuales cuatro se encuentran en la región occidental, igualmente a *Calycolpus moritzianus* incorporado como taxón relacionado; se consideraron los caracteres morfológicos, anatómicos y fitoquímicos, discutidos en capítulos previos de esta tesis, complementados con datos de distribución geográfica, hábitat, usos e ilustraciones de todas las especies estudiadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un trabajo documental previo donde se revisó literatura especializada, con el fin de conocer los tratamientos taxonómicos realizados hasta los momentos en *Psidium*. Así mismo, se visitaron cuatro herbarios del país donde reposan importantes colecciones de este género (Herbario Nacional de Venezuela, VEN; Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes, MER; Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, MY y el Herbario de la Universidad del Zulia, Facultad de Agronomía “Omar Zambrano”, HERZU), ante los cuales se tramitaron préstamos de las exsiccata, con la finalidad de realizar los diferentes análisis.

La información contenida en las etiquetas de los ejemplares herborizados, proporcionó datos sobre distribución geográfica y hábitat, así como también permitió planificar las salidas de campo para las recolectas de muestras frescas en diversas localidades de los estados Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia durante los años 2008 y 2009. Estas plantas fueron incorporadas a la colección del herbario HERZU.

Las características morfológicas, anatómicas y fitoquímicas utilizadas para la descripción de las especies se determinaron en los capítulos correspondientes de esta tesis, explicándose en cada caso las metodologías utilizadas, y en donde se emplearon muestras vegetales de reciente colección así como especímenes herborizados. Con base a estas características se realizó una clave dicotómica artificial para facilitar la identificación de los taxa.

Se realizó una descripción del género *Psidium*, fundamentada en la información que se recabó de las especies consideradas para este estudio; seguidamente, se describen a: *P. guajava*, *P. guineense*, *P. salutare*, *P. sartorianum*, *P. acutangulum*, *P. maribense* y *Calycolpus moritzianus*. Es importante aclarar que en el análisis morfológico, primero en realizar para esta tesis, se estudiaron también a las especies *P. densicomun* y *P. persoonii*,

determinándose en el mismo que representaban sinonimias de *P. acutangulum* por lo cual no se consideraron en los siguientes análisis.

En la descripción general de los taxa se incluyó información morfológica, anatómica y fitoquímica, así como datos de distribución geográfica, hábitat, usos más comunes y comentarios adicionales. Para la descripción morfológica se siguieron los formatos de los trabajos de Mc Vaugh (1963, 1968), Sánchez-Vindas (1990), Bruce *et al.*, (2003), Hokche *et al.* (2008) y Sánchez-Urdaneta y Peña-Valdivia (2011), de los cuales se recabó información que contribuyó a complementar la misma. A continuación de cada descripción, se presenta una ilustración con los aspectos morfológicos más resaltantes y un mapa con la distribución de las especies en el territorio venezolano, mencionando los ejemplares examinados para cada caso.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

DESCRIPCIÓN DEL GÉNERO

Psidium L., Sp. Pl. 470. 1753. [Subtribu Myrtinae]

Especie tipo; *Psidium guajava* L.

Morfología vegetativa: Arbusto o árbol de hasta 25 m de altura; brotes cuadrangulares con ángulos pronunciados, o cilíndricos y moderadamente comprimidos, medianamente o densamente cubiertos por tricomas de textura suave, rojizos, plateados o gris pálido; hojas coriáceas, erectas, lanceoladas, elípticas, ovadas, obovadas, oblanceoladas u oblongas, de 2 a 12 cm de longitud y 1 a 6 cm de ancho, relación largo/ancho de la hoja baja, media o alta (<25%, entre 25 y 50%, > a 50 %, respectivamente), ápice acuminado u obtuso, algunas veces apiculado, base redondeada, subcuneada o cuneada, lámina foliar pudiendo presentar márgenes crenados, nervaduras laterales conspicuas o poco marcadas, prominentes en el envés, número de pares nervaduras bajo (menor a 10 pares), medio (entre 10 y 16 pares) o alto (igual o mayor a 16 pares); pubescencia esparcida o media en el haz, y esparcida, media o densa en el envés; pecíolos de 0,15 a 2 cm de longitud, en algunas especies acanalados; estípulas caedizas o persistentes; filotaxia opuesta u opuesta-decusada.

Inflorescencia: Flores axilares solitarias o en cimas bíparas o ambas, acompañadas o no por brácteas, de 2,5 a 3 cm de diámetro, fragantes, con 4 o 5 pétalos de 0,3 a 1,5 cm de longitud y 0,5 a 1,2 de ancho, blancos, elípticos; sépalos 4 o 5, relación largo/ancho de los sépalos de 1,5 a 1,6, cáliz lobulado o profundamente lobulado; pedicelo de 0,5 a 3 cm de longitud; yemas a la madurez de 13 a 16 mm, con el cáliz cerrado o semi-cerrado.

Fruto: Baya de forma esférica, elipsoide o piriforme, con epicarpo de textura rugosa, amarillo-verdoso o amarillo a la madurez, mesocarpo cremoso con células pétreas usualmente presentes, de colores blanco, amarillo, rosado a rojo, de 0,8 a 7 cm de longitud y de 0,8 a 8 cm de diámetro, relación largo/ancho de 0,6

a 1,4; ápice en forma de ombligo; base cóncava o con cuello; inserción del pedúnculo vertical, central u oblicua; la relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz puede ser menor a 25 %, entre 25 y 50%, o mayor a 50%; semillas numerosas, angulares, de forma ovoide, color crema, de 0,3 a 0,8 cm de largo y 0,8 cm de ancho, testa ósea, textura lisa; embrión curvado, en forma de “C”.

Anatomía de la lámina foliar: Epidermis uniestratificada, con cutícula de 1, 48 a 7,27 μm de espesor; células epidérmicas de contornos ovales, cuyas paredes miden de 1,29 a 3,38 μm en promedio de grosor; estrato epidérmico abaxial menor que el adaxial; debajo de ésta última superficie se observan de uno a tres estratos subepidérmicos; estomas paracíticos, distribuidos uniformemente en hojas hipostomáticas o anfiestomáticas, de dimensiones que varían de 12,20 a 16, 37 μm de ancho y de 15,75 a 19,24 μm de longitud, densidad estomática de 13,70 a 19,66 estomas $\cdot 21571\mu\text{m}^{-2}$, tricomas unicelulares midiendo de 97,24 a 293,75 μm de longitud. Mesófilo dorsiventral; células del parénquima en empalizada de formas alargadas o elípticas, midiendo la sección ocupada por este parénquima desde 23,83 hasta 62,85 μm de espesor; parénquima esponjoso poco diferenciado o diferenciado, ocupando de 31,44 a 74,62 μm ; presencia de drusas con cristales prismáticos (idioblastos). Cavidades secretoras de forma circular a nivel subepidérmico en ambas superficies de la lámina foliar, pudiendo medir en diámetro desde 36,11 hasta 69,85 μm , observándose de 0,40 a 0,58 cavidades $\cdot 21571\mu\text{m}^{-2}$, las células adyacentes a éstas de paredes anticlinales sinuosas. Nervadura central de forma cóncavo-convexa, plano-convexa o biconvexa; haz vascular principal bicolateral, en forma de arco, semi-arco o casi plano; haces vasculares secundarios ausentes; células parenquimáticas de formas isodiamétricas en el haz vascular principal; presencia de fibras pericíclicas.

Flavonoides: Los principales flavonoides que contribuyen a la caracterización de las especies son: miricetina, luteonina y kaempferol, aún cuando también se pueden detectar en menor proporción quercetina y apigenina

Número de especies: Según el Catálogo de la Flora Vascular de Venezuela (Hokche *et al.*, 2008), se reportan 13 especies (*P. appendiculatum*

Kiaersk., *P. brownianum* DC., *P. cinereum* DC., *P. friedrichsthalianum* (O. Berg) Nied., *P. laruottenanum* Cambess, *P. striatulum* DC., *P. densicomun* DC., *P. guajava*, *P. guineense*, *P. salutare* y *P. sartorianum*, *P. acutangulum* y *P. maribense*); sin embargo, en la investigación realizada por Rivero *et al.* (2012), se proponen a *P. acutangulum* y *P. densicomun* como sinónimos.

Para el occidente del país y de acuerdo a las fuentes de información consideradas en esta investigación, donde se incluyó además la revisión de ejemplares herborizados, de literatura especializada y recorridos de campo, se determinó que las especies *P. guajava*, *P. guineense*, *P. salutare* y *P. sartorianum* están presentes en los estados Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia, entidades correspondientes a la región occidental de Venezuela en la cual se centró el presente estudio.

Distribución geográfica: Las especies estudiadas en esta investigación presentaron una amplia distribución; así, *P. guineense* según los recorridos de campo y revisión de ejemplares herborizados está presente en 18 entidades del país, *P. guajava* en 14, *P. salutare* en 12, *P. sartorianum* en 9 estados, *P. acutangulum* en 8 y *P. maribense* en 7 estados. Estos resultados coincidieron con lo expuesto por Pacheco *et al.*, (2011), quienes establecieron que las especies *P. guajava* y *P. guineense* son las que se encuentran presentes en un mayor número de estados.

Hábitat: Las especies se pueden localizar en altitudes que van desde 20 hasta 1800 msnm. Poseen una alta adaptabilidad a diversos ambientes, desde húmedos, tales como áreas anegadas, riberas de ríos y zonas inundables (*P. acutangulum* y *P. maribense*), hasta condiciones de bosque muy seco tropical, con altas temperaturas y prolongadas estaciones de sequía (Ej. *P. guineense* y *P. salutare*). En general las especies de *Psidium* se consideran propias de vegetación sabanera, compartiendo hábitat con pastizales y chaparrales, así como también se asocian a bosques de galerías y vegetación de montaña; son abundantes en zonas alteradas y deforestadas, por lo cual se les considera

vegetación sucesional secundaria. Pueden crecer de forma aislada o mostrar hábitos gregarios.

Usos: La especie del género más cultivada en las zonas áridas y semi-áridas del mundo es *P. guajava* por su potencialidad como rubro frutícola. También se le atribuyen propiedades antioxidantes y medicinales, así como a la mayoría de las especies de este género. Otros de los usos conocidos es como curtidora de cuero, específicamente utilizando su corteza. De las otras especies, por no poseer frutos de mayor tamaño y mejor sabor, pueden utilizarse los mismos para la elaboración de productos procesados o como saborizantes de bebidas (Ej. *P. acutangulum*, *P. salutare*). La madera de algunas especies puede utilizarse para la obtención de leña y elaboración de artesanías, utensilios y herramientas (Ej. *P. sartorianum*).

Clave para la identificación de las especies de *Psidium*

1. Plantas adaptadas a zonas de alta humedad, anegadas o inundables2
 2. Árbol o arbusto de hasta 4 m de altura; ramas jóvenes no aladas; hojas con márgenes crenados, elípticas u ovales, 3 a 5 cm de longitud y 1 a 2 cm de ancho; número de pares de nervaduras entre 10 y 16 pares; flor solitaria con pedicelo de 0,5 a 1,5 cm de longitud; cáliz cerrado con lóbulos obtusos, 4 sépalos; espesor de cutícula en lámina foliar igual a 2,58 μm ; hojas anfiestomáticas; tricomas unicelulares de 97,24 μm de longitud; nervadura central de forma plano-convexa. Es una planta frecuente en vegetación arbustiva ribereña, asociándose a suelos arenosos y sometidos a inundación, se encuentra en altitudes entre los 50 a 100 msnm.....***P. maribense***
 - 2'. Árbol o arbusto de 6 a 10 m de altura; ramas jóvenes marcadamente aladas; hojas con márgenes enteros, elípticas, ovadas o lanceoladas, 7 a 10,5 cm de longitud y 4 a 5 cm de ancho; número de pares de nervaduras entre 10 y 16 o mayor a 16 pares; flor solitaria con pedicelo de 2 a 3 cm de longitud; cáliz cerrado y lóbulos apiculados, 4 a 5 sépalos; espesor de cutícula en lámina foliar igual a 1,91 μm ; hojas hipoestomáticas; tricomas unicelulares de 120,5 μm de longitud; nervadura central en forma de arco. Planta común de áreas anegadas, como riberas de los ríos y bosques inundables, en altitudes entre 50 a 500 msnm.....***P. acutangulum***
- 1' Plantas adaptadas a zonas secas, áridas o semi áridas.....3
 3. Arbusto o árbol de hasta 25 m de altura; hojas elípticas u oblongas, de 2,8 a 5 cm largo y hasta 1,4 cm de ancho, con menos de 10 pares de nervaduras, ápice de acuminado a agudo; flores solitarias, pocas veces en cimas bíparas, con pétalos de 0,3 a 0,4 cm de largo y 1,1 cm de ancho; relación diámetro del cáliz/tamaño de fruto mayor a 50%***P. sartorianum***
 - 3'. Sub arbusto, arbusto o árbol de hasta 10 m; hojas elípticas, ovales, ovadas, lanceoladas, obovada, oblanceolada, de 2 a 12 cm de largo y de 1,5 a 6 cm de ancho, con 10 a 16, o más de 16 pares de nervaduras; flores con pétalos de 0,5 a 1,4 cm de largo y hasta 0,7 cm de ancho; relación diámetro del cáliz/tamaño de fruto entre 25 y 50%.....4

4. Sub arbusto o arbusto de 1 a 1,5 m de altura. Tallos glabros o esparcidamente pubescentes; brotes o ramas jóvenes cilíndricas a cuadrangulares; lámina foliar, de 2 a 9 cm largo, 1,5 a 5,5 cm ancho, entre 10 a 16 o menos pares de nervaduras, estípulas caedizas, pecíolo de longitud menor a 2 mm; flores solitarias o en cimas bíparas, acompañadas por brácteas, cáliz profundamente lobulado, pétalos 5, con menos de 1 cm de longitud, Anatómicamente a nivel foliar presenta un solo estrato celular subepidérmico, cutícula, pared de las células epidérmicas y mesófilo con grosores de 7,27, 3,38 y 119,68 μm , respectivamente, haz vascular principal de forma casi plana. Presencia de los flavonoides miricetina y luteonina. Plantas asociadas principalmente a pastizales o vegetación arbustiva baja.***P. salutare***

4' Arbusto o árbol de 1 a 10 m de altura. Tallos pubescentes; brotes o ramas jóvenes acusados o cuadrangulares o cilíndricos; lámina foliar de 5 a 12 cm de longitud y de 3,5 a 6 cm de ancho, entre 10 a 16 o más pares de nervaduras, estípulas persistentes o caedizas; botones florales con bractéolas; flores solitarias, en cimas bíparas o ambas, cáliz no lobulado, pétalos 4 o 5, con más de 1 cm de longitud. Anatómicamente a nivel foliar presenta dos o tres estratos subepidérmicos, haz vascular principal de forma semi-arqueada y en algunos casos arqueada. Presencia de los flavonoides miricetina, kaempferol y luteonina. Plantas asociadas a diversidad de ambientes, como sabanas, chaparral cerrado, sabana de montaña y bosques bajos.....5

5. Arbusto de 1 a 4 m de altura. Brotes o tallos jóvenes cilíndricos, subcilíndricos o aplanados, densamente pubescentes con tricomas erectos, suaves y de color rojo cobrizo; lámina foliar coriácea de 7 a 12 cm de longitud y 3,5 a 6 cm de ancho, menos de 10 pares de nervaduras o entre 10 a 16 pares, estípulas persistentes; flores solitarias o en cimas bíparas, sépalos 5, frutos esféricos o elipsoides, relación diámetro del cáliz/tamaño de fruto entre 25 y 50%. Anatómicamente a nivel foliar presenta dos estratos subepidérmicos. Plantas asociadas a diversidad de ambientes como sabanas, chaparral cerrado, sabana de montaña y bosques bajos, adaptada a suelos ferrugíneos, en altitudes hasta los 1200 m..... ***P. guinnense***

5'. Arbusto o árbol de 1 a 10 m de altura. Brotes o ramas jóvenes moderadamente pubescentes, acusados o cuadrangulares; lámina foliar de 5 a 11 cm de largo y 3,8 a 4,5 cm de ancho, número de pares de nervaduras igual o mayor a 16, estípulas caedizas; flores solitarias, en cimas bíparas o ambas, sépalos 4. Frutos esféricos o piriformes, relación diámetro del cáliz/tamaño de fruto menor a 25%. Anatómicamente a nivel foliar presenta tres estratos subepidérmicos. Plantas generalmente cultivadas, asociadas a diversos ambientes, muy frecuente en vegetación sabanera y en pastizales, se encuentran en altitudes hasta 1800 m, pero es más común hasta 1000 m o menos***P. guajava***

DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES

Se presentan a continuación las descripciones de las especies de *Psidium*, así como la de *Calycolpus moritzianus*, incluido como taxa relacionado en este trabajo.

***Psidium acutangulum* DC.**, Prodr. 3: 233. 1828.

“Guayaba Pará”, “Aracá”, “Guayabo agrio o montaño”, “Guayabo de caño danero”. Figura 1.

Morfología vegetativa: Arbusto ó árbol de 6 a 10 m de altura; hojas erectas, elípticas, ovadas o lanceoladas, largo promedio entre 7 y 10,5 cm, pudiendo alcanzar más de esa longitud, ancho de 4 a 5 cm, relación largo-ancho de la hoja entre 25 y 50%, nervaduras laterales prominentes o poco marcadas, número de pares de nervaduras medio a alto (igual o mayor a 16), pubescencia esparcida en ambas superficies de la lámina foliar, ; pecíolo usualmente menor a 6 mm de longitud (figura 1a); estípulas caedizas; filotaxia predominantemente opuesta.

Inflorescencia: Flores solitarias, raramente tres, estilo de 11 a 20 mm de longitud, pétalos de 1,5 mm de largo; 4 ó 5 sépalos, relación largo/ancho de los sépalos igual a 1,34; longitud del pedicelo de 2 a 3 cm (figura 1b). Cáliz cerrado o semi-cerrado en la yema floral, desprendiéndose irregularmente en 5 lóbulos generalmente no evidentes.

Fruto: Esféricos, de 2 a 3 cm de longitud y de 2 a 2,5 cm de ancho, relación largo/ancho de 1 a 1,2, epicarpo rugoso, de color verde; ápice en forma de ombligo, base cóncava o con cuello, inserción del pedúnculo de forma vertical; relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz menor a 25% (figura 1c); semillas generalmente angulares, en forma de “C”.

Anatomía de la lámina foliar: Epidermis simple, cutícula de 1,91 μm de espesor, paredes de las células epidérmicas de contornos predominantemente ovales, midiendo 1,54 μm de grosor promedio, estrato epidérmico adaxial mayor que el abaxial; un estrato subepidérmico presente; hojas hipoestomáticas, estomas paracíticos de dimensiones 13,9 μm de ancho y 19,24 μm de longitud, distribuidos uniformemente; densidad estomática igual a $15,40 \text{ estomas} \cdot 21571 \mu\text{m}^{-2}$, tricomas unicelulares de 120,5 μm de longitud. Mesófilo bifacial, parénquima en empalizada con células de forma elíptica, de 23,83 μm de espesor, parénquima esponjoso poco diferenciado, registrando 32,32 μm en promedio de espesor; presencia de drusas. Cavidades secretoras circulares, con diámetro y número promedio de 62,97 μm y $0,58 \cdot 21571 \mu\text{m}^{-2}$, respectivamente, presentes en ambas superficies de la lámina foliar. Nervadura central con haz bicolateral en forma de arco, con fibras pericíclicas; haces vasculares secundarios ausentes.

Flavonoides determinados: En esta especie sólo se determinó el flavonoide miricetina.

Distribución geográfica: Según la información recabada *P. acutangulum* se localiza en Amazonas, Apure, Bolívar, Cojedes y Guárico. También se localiza en los estados Anzoátegui, Barinas y Delta Amacuro (figura 2).

Hábitat: Es una planta común de áreas anegadas, como riberas de los ríos y bosques inundables; también se localiza en sabanas y bosques de galerías. Se encuentra en altitudes entre los 50 a 500 m.

Usos: Sus frutos son comestibles, pueden ser utilizados como saborizantes de bebidas; poseen un alto poder antioxidante. En Brasil, sus frutos son apreciados para el consumo en forma natural (Franzon *et al.*, 2009).

Comentarios: Es una especie muy variable y ampliamente dispersada, lo que ha derivado en confusiones a nivel taxonómico; algunas especies reconocidas y que de acuerdo a las observaciones de esta tesis se proponen como sinonimias son: *P. persoonii* y *P. densicomun*; no obstante algunos autores establecen que

esta especie representa un complejo de entidades cuyo estudio puede ser útil para el tratamiento del género.

Según Bruce et al (2003), *P. acutangulum* se puede distinguir de otras especies de *Psidium* porque las ramas jóvenes son marcadamente aladas, el cáliz es cerrado y apiculado, y los brotes y pecíolos presentan pubescencia esparcida.

De las observaciones realizadas en esta tesis se permiten referir ciertos datos particulares que pueden ser de utilidad para contribuir a la distinción de esta especie, uno de ellos es la determinación en sus hojas de únicamente el flavonoide miricetina en 100 % de las muestras analizadas, al igual que en *P. maribense*; otras características en común que presentaron estas dos especies fueron el grado de diferenciación del parénquima esponjoso, el cual fue poco diferenciado en ambos casos, así como también presentaron una forma arqueada del haz vascular principal. Es probable que uno de los factores determinantes en la semejanza que presentan estas dos especies esté asociado al tipo de hábitat en el cual crecen, ya que se adaptan muy bien a áreas anegadas o muy húmedas.

Ejemplares examinados

Colectores, N° de colección y herbario: J. Steyermark y G. Bunting: 102470 VEN; A. Castillo, R. Duno y R. Smith: 3131 MY; G. Davidse y A. González: 16205 MY; G. Davidse y A. González: 14420 MY; R. López y O. Gutiérrez: 666 MY; B. Trujillo: 2161 MY.

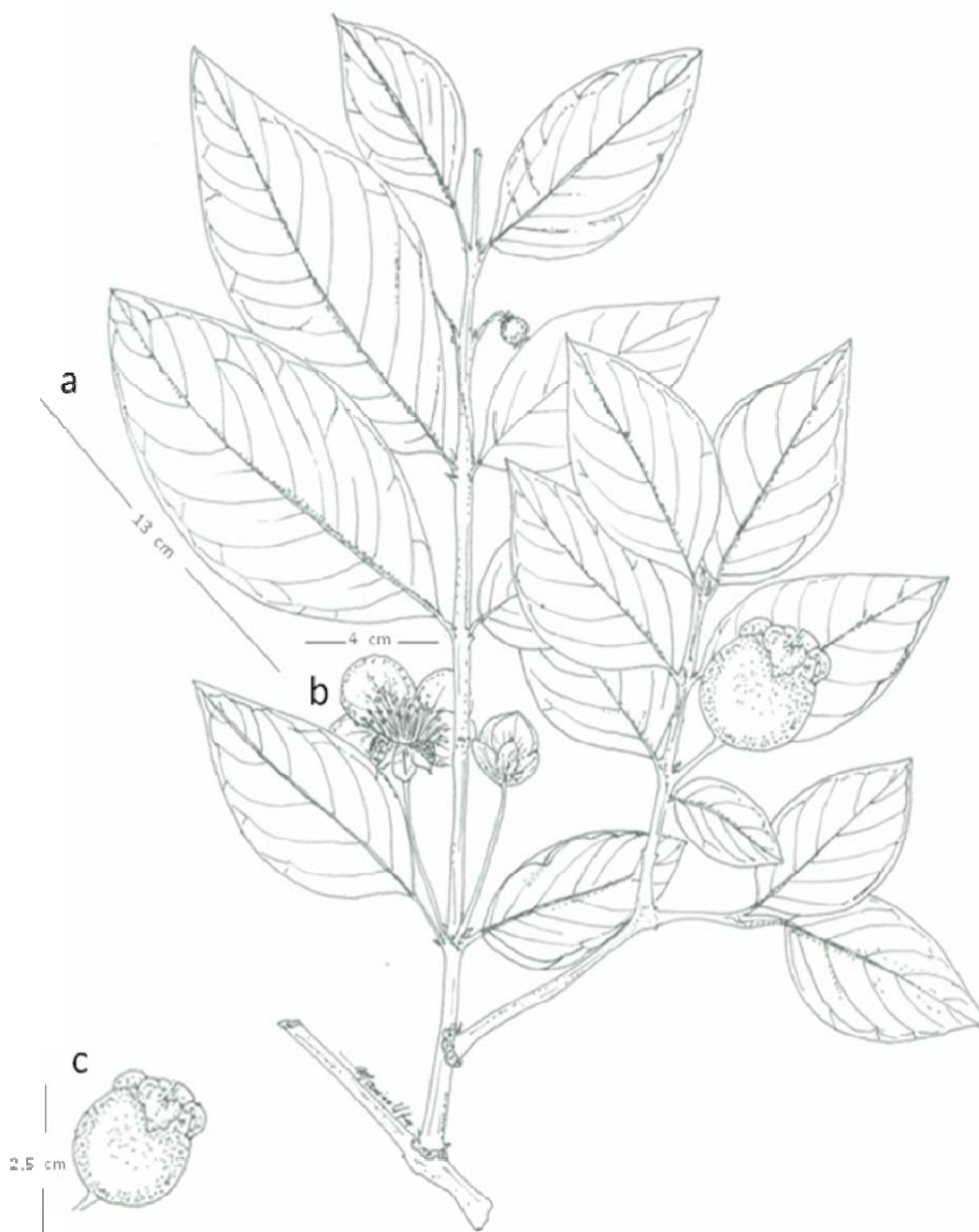


Figura 1. *Psidium acutangulum* DC. a) Lámina de forma elíptica; número de pares de nervaduras igual o mayor a 16 pares; pecíolo corto (usualmente menor a 6 mm de longitud); b) flor solitaria; pedicelo de 2 a 3 cm; c) fruto de forma esférica; relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz menor a 25%. Ejemplares de respaldo: W. Díaz, O. Acosta, M. Blanco y J. Pérez 6762 VEN; C. Knab-Vispo: 760 MY.

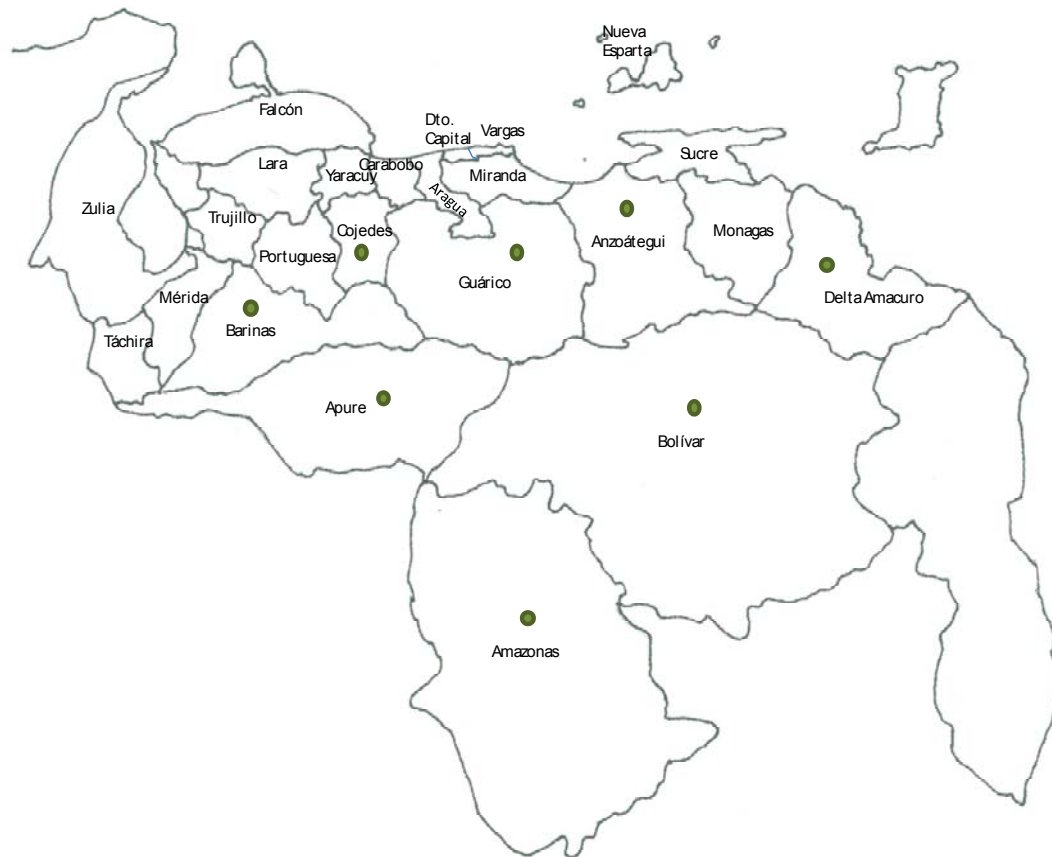


Figura 2. Distribución de *Psidium acutangulum* en Venezuela

***Psidium guajava* L.**, Sp. Pl. 470. 1753.

“Guayabo”, “Guayaba”. Figura 3.

Morfología vegetativa: Arbusto o árbol de hasta 10 m de altura; brotes acusados o cuadrangulares, con ángulos pronunciados, cubiertos por tricomas de textura suave, rojizos o plateados a gris pálido; hojas coriáceas, erectas, elípticas u ovales, de 5 a 11 cm de largo y 3,8 a 4,5 cm de ancho, relación largo/ancho de la hoja entre 25 y 50%, ápice acuminado u ocasionalmente obtuso, base redondeada o subcuneada, nervaduras siempre conspicuas y paralelas, prominentes en el envés, número de pares nervaduras alto (igual o mayor a 16) (figura 3a); pubescencia media en el haz y densa en el envés; pecíolos de 2 cm de longitud, acanalados; estípulas caedizas; filotaxia opuesta decusada.

Inflorescencia: Flores axilares solitarias, cimas bíparas o ambas, de 2,5 a 3 cm de diámetro, fragantes, pentámeras, con pétalos de 0,5 a 1 cm de longitud y 0,5 de ancho, blancos, elípticos; sépalos 4, relación largo/ancho de los sépalos igual a 1,5; pedicelo de 1 a 2 cm de longitud; yemas a la madurez de 13 a 16 mm, completamente cerradas en el ápice.

Fruto: De forma esférica o piriforme (figura 3b), epicarpo de textura rugosa, amarillo a la madurez, células pétreas usualmente presentes en el mesocarpo de color blanco, amarillo, rosado a rojo; tamaño del fruto de 2 a 7 cm de longitud y de 3 a 8 cm de diámetro, relación largo/ancho de 0,6 a 0,75; ápice en forma de ombligo; base cóncava o con cuello; inserción del pedúnculo vertical o central; relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz menor a 25 % (figura 3b); semillas de forma ovoide, color crema, de 0,3 cm de largo y 0,2 cm de ancho, textura lisa; embrión curvado.

Anatomía de la lámina foliar: Epidermis uniestratificada, con cutícula de 1, 48 μm de espesor; células epidérmicas de contornos ovales, cuyas paredes miden 1,56 μm en promedio de grosor; estrato epidérmico abaxial menor que el adaxial; debajo de ésta última superficie se observan dos o tres estratos subepidérmicos; estomas paracíticos, distribuidos uniformemente en el envés, de dimensiones

18,61 μm x 16 μm , densidad estomática igual a $18,14 \cdot 21571 \mu\text{m}^{-2}$; tricomas unicelulares con 143,87 μm de longitud. Región del mesófilo dividido en parénquima empalizada y parénquima esponjoso determinando dorsiventralidad; células del parénquima en empalizada predominantemente de formas alargadas, midiendo la sección ocupada por este parénquima 59,65 μm de espesor; parénquima esponjoso poco diferenciado o diferenciado, ocupando 68,41 μm ; presencia de drusas con cristales prismáticos (idioblastos). Cavidades secretoras de forma circular a nivel sub-epidérmico en ambas superficies de la hoja, de diámetro 58,32 μm , observándose $0,40 \text{ cavidades} \cdot 21571 \mu\text{m}^{-2}$, las células adyacentes a éstas de paredes anticlinales sinuosas. Nervadura central de forma cóncavo-convexa o plano-convexa; haz vascular principal bicolateral, en arco o semi-arco; haces vasculares secundarios ausentes; células parenquimáticas de formas isodiamétricas en el haz vascular principal; presencia de fibras pericíclicas.

Flavonoides determinados: miricetina, luteonina y kaempferol.

Distribución geográfica: De acuerdo a la revisión de ejemplares de los herbarios, *P. guajava* en Venezuela está presente en los estados Amazonas, Apure, Aragua, Bolívar, Carabobo, Falcón, Lara, Mérida, Miranda, Táchira, Trujillo y Zulia. Según Bruce *et al.* (2003), la especie también se localiza en Nueva Esparta y Sucre (figura 4).

En el recorrido que se realizó por la región occidental del país para la recolecta de material fresco, se visitaron diversas localidades de los estados Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia. En Mérida el intervalo altitudinal entre los sitios de recolección varió de 310 msnm a 1880 msnm, visitándose los municipios Santos Marquina y Campo Elías; en el estado Táchira se recolectaron plantas desde los 560 msnm, en un margen de la carretera La Fría-Seboruco, hasta 1430 msnm en el sector Pan de Azúcar; en Trujillo desde los 20 msnm a orillas de la carretera que dirige a La Ceiba en la parroquia Junín, hasta Sabana de Mendoza con una altitud de 68 msnm; en el estado Zulia, se visitó el municipio Miranda, región Socopo, recolectándose muestras de *P. guajava* en la carretera Agua Santa-La

Tabla, a una altura de 110 msnm, finalizando en el sector Churugarita donde se registró una altitud de 190 msnm.

Hábitat: *P. guajava* se adapta a una diversidad de ambientes, desde climas templados a bosque muy seco tropical; se encuentra en altitudes hasta 1800 m, pero es más común hasta 1000 m o menos; es muy frecuente en vegetación sabanera y en pastizales, también crece en los bordes de los bosques y a lo largo de los arroyos; abundante en zonas alteradas y deforestadas, por lo cual se le asocia a vegetación secundaria. Es la especie del género más cultivada en las zonas áridas y semi-áridas del mundo como rubro frutícola. En condiciones naturales, la producción es estacional, bajo cultivo el crecimiento del árbol es continuo, en consecuencia la producción ocurre durante todo el año. Por otro lado, en Fiji y en Hawaii se considera una maleza.

Durante las visitas efectuadas por el occidente venezolano, *P. guajava* se localizó en áreas alteradas, tales como orillas de carreteras, potreros, así como también se encontró asociada a vegetación sabanera en tierras bajas de los estados Zulia y Trujillo; en la zona alta se observó asociada a vegetación del pie de monte andino, con altitudes superiores a los 1500 msnm, en localidades pertenecientes a los estados Mérida y Táchira; éstos aspectos evidencian la gran adaptabilidad que demuestra esta especie a diversos hábitat.

En un estudio florístico realizado en la localidad de Bailadores, Mérida-Venezuela, se determinó que *P. guajava* forma parte del bosque natural de éste estado, adaptada a las condiciones de estacionalidad, regenerándose rápidamente después de las perturbaciones generadas por la interacción entre la vegetación natural y los asentamientos humanos (Aranguren y Márquez, 2011).

Usos: Es un importante cultivo alimenticio, rica en vitamina C; es una de las más reconocidas e importante fruta tropical y subtropical, puede ser consumida de forma fresca o procesada. Desde el punto de vista medicinal, se han realizado diferentes experimentos farmacológicos tanto *in vitro* como *in vivo*, identificando importantes fitoconstituyentes. Se ha obtenido buena producción de metabolitos y

algunos de ellos han demostrado poseer actividad biológica útil, principalmente compuestos fenólicos, flavonoides, carotenoides, terpenoides y triterpenos, extraídos de las hojas y frutos. Las revisiones de la literatura reportan que *P. guajava* es mayormente conocida por sus propiedades antiespasmódicas y antimicrobiales, en el tratamiento de diarrea y disentería y otras muchas afecciones. También se le atribuyen propiedades para combatir infecciones en garganta, leucorrea, hemorroides y desordenes menstruales. La corteza es utilizada en algunas zonas de México para curtir cuero.

En la región occidental, específicamente en el estado Zulia, *P. guajava* es un importante cultivo frutícola, existiendo una significativa superficie sembrada en el municipio Mara, ubicado en la región nor-occidental de la entidad, la cual ha ido decreciendo debido a factores antagónicos de tipo biótico; otra zona productora lo representa el municipio Baralt, localizado en la costa oriental del lago de Maracaibo, siendo estas las principales áreas agrícolas para este rubro; en esta última se producen frutos de mayor tamaño, pero con menos azúcares, lo cual es atribuible a condiciones ambientales, que incluyen factores climáticos y manejo agronómico.

Comentarios: Morfológicamente, *P. guajava* se puede confundir con *P. guineense*, especie con la cual comparte muchas características, diferenciándose de esta a simple vista, por el número de pares de nervaduras en sus hojas, el cual es mayor a 16. Otro rasgo distintivo es el tipo de inflorescencia ya que *P. guajava* presenta flores solitarias, cima bípara o ambas; finalmente, la presencia de cuatro sépalos y de estípulas caedizas, constituyen caracteres útiles para distinguir a esta especie de *P. guineense*.

Desde el punto de vista anatómico, en *P. guajava* se pueden evidenciar de dos a tres estratos celulares sub-epidérmicos en posición adaxial. Según Gomes *et al.* (2009) éste carácter se considera útil para la taxonomía de la familia Myrtaceae.

En cuanto al contenido de flavonoides, es importante destacar que tanto *P. guajava* como *P. guineense* presentaron kaempferol, miricetina y luteonina, no obstante, éste último se encontró en un mayor número de ejemplares analizados de *P. guajava* (31%), en comparación con los de *P. guineense* (8%).

Un comentario final tiene relación con la variación observada en los frutos de *P. guajava*, los cuales varían grandemente en tamaño, color, forma y sabor, dependiendo de las condiciones ambientales, incluyendo el manejo agronómico cuando se establece como planta cultivada, destacando el tipo de propagación, la cual se realiza principalmente por semilla; de ésta gran variabilidad se han derivado una serie de morfotipos definidos como materiales, restando por definir su verdadera identidad genética.

Ejemplares examinados

G. Rivero, D. Pacheco, A. Sánchez, G. Sthormes: 3313, 3317, 3318, 3319, 3320, 3321, 3322, 3323, 3324, 3330, 3350, 3354, 3355, 3356, 3357, 3360, 3361, 3362, 3370, 3371, 3387, 3390 HERZU; Ferrari: 1531 MY; B. Trujillo: 2223 MY; P. Montaldo: 3735 MY; D. Herrera y A. Puente: 874 MER; G. O. Camacaro: 12 MER; A. Quintero, M. Ricardi y R. Carroz: 285 MER; G. Raets: 202 MER; J. Serrano: 3, 4 MER; D. Herrera y A. Puente: 759 MER; J. Guevara, B. Russo y A. León: 598 MER; B. Mora: 16 MER; J. Sternermark y V. Carreño: 107683 VEN; F. Deslacio y A. González: 12235 VEN; E. Little: 15299 VEN.

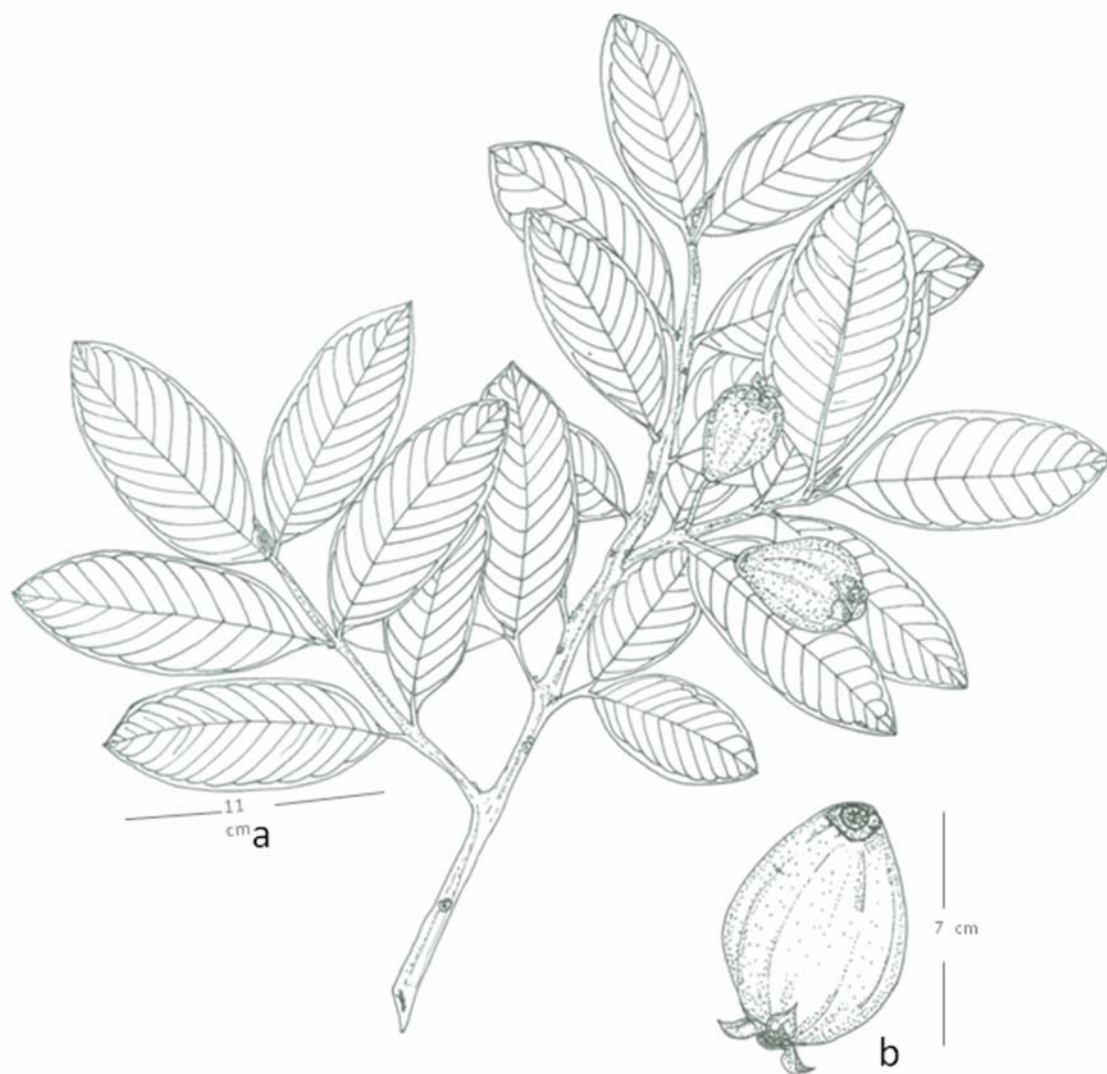


Figura 3. *Psidium guajava* L. a) Lámina foliar de forma elíptica; número de pares de nervaduras mayor a 16 pares; b) fruto piriforme; relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz menor a 25 %. Ejemplares de respaldo: G. Rivero, D. Pacheco, A. Sánchez y G. Sthormes: 3391 HERZU.

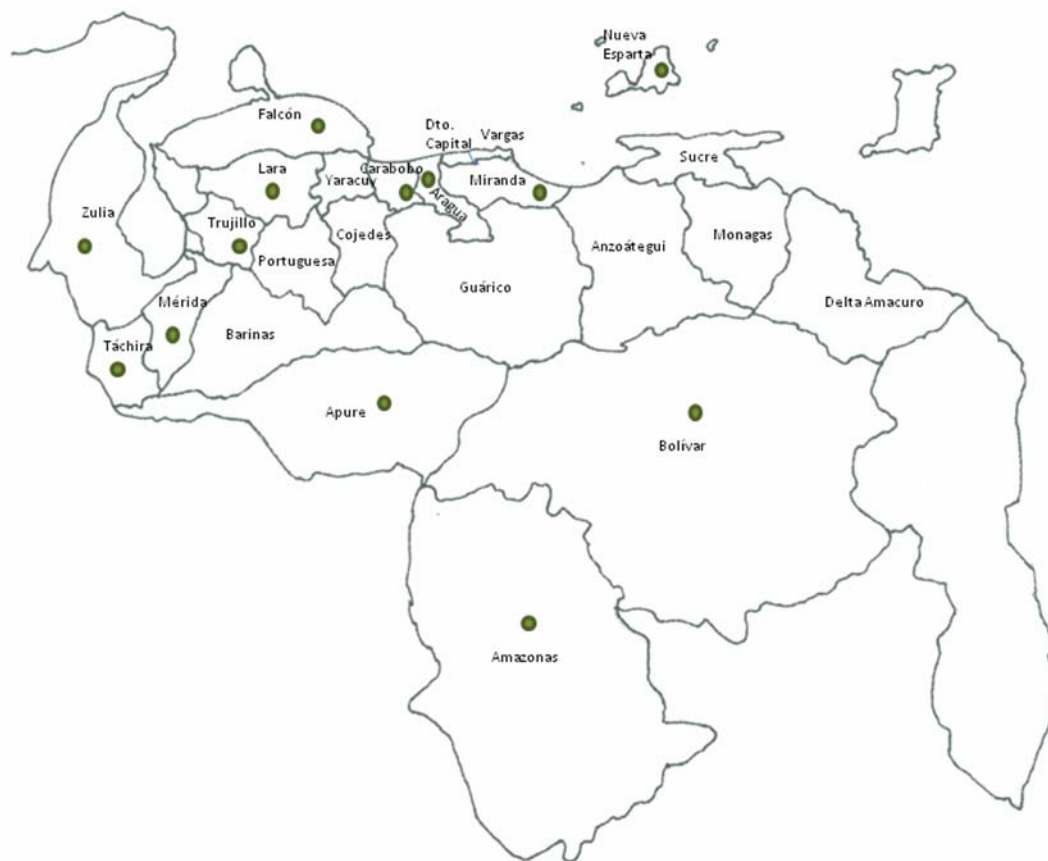


Figura 4. Distribución de *Psidium guajava* en Venezuela

***Psidium guineense* Sw.**, Prodr. 77. 1788.

“Guayabito sabanero”, Guayaba Brasileira”, “Guayabillo”. Figura 5

Morfología vegetativa: Arbusto de 1,5 a 4 m de alto, ocasionalmente un árbol pequeño; brotes casi cilíndricos y moderadamente comprimidos, rara vez con ángulos definidos por debajo de las bases de las hojas, densamente pubescente en las ramas jóvenes, con tricomas erectos, suaves y de color rojo cobrizo; hojas coriáceas, erectas, elípticas u ovales, de 7 a 12 cm de longitud y 3,5 a 6 cm de ancho, relación largo/ancho de la hoja entre 25 y 50%, ápice redondeado u obtuso y base subcuneada, nervaduras laterales prominentes, número de pares de nervaduras medio o bajo (< 16 pares) (figura 5a), pubescencia media o densa en el envés y esparcida en el haz; pecíolo de 4 a 12 mm de longitud; estípulas persistentes; filotaxia opuesta decusada.

Inflorescencia: Flores axilares solitarias o cimas bíparas; pedicelo de 0,9 a 2,15 cm de longitud, 4 ó 5 pétalos, de 1 a 1,4 cm de longitud y 0,5 a 0,7 cm de ancho (figura 5b); 5 sépalos de 1,5 a 2,20 cm de longitud y 1,5 cm de ancho, con una relación largo/ancho de 1,5.

Fruto: De forma esférica o elipsoide, relación largo/ancho cercana a 1, epicarpo de textura rugosa, de color amarillo-verdoso o amarillo cuando maduros, mesocarpo amarillo cremoso, ápice en forma de ombligo, base predominantemente cóncava, inserción del pedúnculo en forma vertical. Relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz entre 25 y 50%. Semillas de 3 mm de longitud, aproximadamente 100 por fruto (figura 5c).

Anatomía de la lámina foliar: Epidermis simple o uniestratificada, recubierta con cutícula de 1,69 μm de espesor, células de la epidermis de contornos ovales, midiendo su pared 1,93 μm , estrato epidérmico abaxial menor que el adaxial; inmediatamente debajo de la epidermis adaxial se evidencian dos estratos subepidérmicos, en menor proporción tres; estomas paracíticos distribuidos uniformemente en el envés de la lámina foliar, midiendo 17,01 μm de

longitud y 16,37 μm de ancho, densidad estomática igual a 19,66 estomas $\cdot 21571\mu\text{m}^{-2}$; tricomas unicelulares de 238,33 μm de longitud. Mesófilo dorsiventral, predominio de forma alargada de las células del parénquima en empalizada, el cual midió 62,85 μm en sección transversal; parénquima esponjoso poco diferenciado o diferenciado, con un espesor igual a 63,25 μm ; se evidenció la presencia de drusas de cristales prismáticos. Cavidades secretoras de forma circular, distribuidas en ambas superficies de la lámina, registrando en diámetro 52,62 μm , se contabilizaron 0,48 cavidades $\cdot 21571\mu\text{m}^{-2}$, células adyacentes a éstas cavidades de contornos sinuosos. Forma de la nervadura central plano-convexa, en menor proporción biconvexa, haz vascular principal bicolateral, de forma semi-arqueada y en algunos casos arqueada; haces vasculares secundarios ausentes; células parenquimáticas que acompañan el haz vascular principal de forma isodiamétrica; presencia de fibras pericíclicas.

Flavonoides determinados: miricetina, luteonina y kaempferol.

Distribución geográfica: Según la información obtenida de ejemplares herborizados y de literatura especializada, la especie *P. guineense* se distribuye en los estados: Amazonas, Apure, Aragua, Barinas, Bolívar, Carabobo, Cojedes, Delta Amacuro, Distrito Capital, Falcón, Guárico, Mérida, Miranda, Monagas, Portuguesa, Táchira, Yaracuy y Zulia (figura 6).

En Mérida, *P. guineense* se localizó a una altitud de 1610 msnm, en la localidad “El Salado Alto” del municipio Campo Elías, así como también en “Los Chorros de Milla” a 1600 msnm. En el estado Táchira, se recolectaron muestras de varios individuos localizados a orillas de la carretera Michelena-Colón (1090 msnm). En Trujillo, esta especie se encontró en los márgenes de la vía que conduce desde Agua Viva a Agua Santa, y en esta última localidad a 110 msnm; mientras que en Zulia, específicamente en la región de Socopo, ubicado entre los límites de este estado con Falcón y Lara, las plantas se localizaron desde 140 a 180 msnm, en las localidades “El Pensado” y “Churugarita”. Al igual que *P. guajava*, esta especie se adapta a diversos pisos altitudinales, aun cuando se ha referido que preferiblemente se localiza en altitudes entre los 50 a 800 msnm.

Hábitat: En Venezuela es la especie de *Psidium* más cosmopolita; es muy común en sabanas, asociada a vegetación de chaparral cerrado, sabana de montaña (en zonas de lomas) y bosques bajos; es una planta sucesional característica de vegetación secundaria, adaptada a suelos ferrugíneos.

De las observaciones recabadas durante el trabajo de campo efectuado para la recolecta de material, se determinó que *P. guineense* es una especie ampliamente dispersada y por ende adaptada a diversidad de ambientes, principalmente a aquellos que han sufrido alteraciones antrópicas, tales como bordes de carreteras y vías en general, potreros, así como también está asociada a vegetación de sabana, tales como chaparrales. Otro aspecto importante tiene relación con el hábito gregario observado, existiendo en la mayoría de los casos más de un individuo en los sitios de recolección.

Usos: Sus frutos pueden consumirse frescos, pero por su sabor amargo o resinoso y la abundante cantidad de semillas, son más apropiados para preparar productos procesados como dulces, mermeladas, jaleas; también se reporta el aprovechamiento de su madera para la fabricación de utensilios y para la obtención de carbón vegetal y leña. En la medicina tradicional venezolana se le han atribuido propiedades antisépticas, presentando una alta actividad bactericida y fungicida (Lapenna *et al.*, 2003). En el estado Mérida se utiliza para el tratamiento de Leishmaniasis, enfermedad transmitida por insectos (Martens, 1999).

En algunas localidades de Brasil, se ha empleado sus raíces para tratar enfermedades urinarias, diarrea y disentería; las hojas tienen propiedades antiinflamatorias (Franzon *et al.*, 2009). En Costa Rica se recomienda para reducir venas varicosas y úlceras en las piernas. Una decocción de la hoja se toma para eliminar fríos y bronquitis. En investigaciones realizadas en Argentina se determinó que ciertos órganos de *P. guineense* poseen alta actividad antimicrobial, tales como el pericarpio del fruto.

Por la rusticidad de la planta, carácter reflejado en la resistencia y tolerancia a plagas y enfermedades, adaptación a diversos ambientes, incluyendo suelos áridos y de baja fertilidad, lo cual se evidenció durante las visitas efectuadas a estados del occidente de Venezuela, *P. guineense* podría ser una especie potencial a utilizarse como portainjerto de *P. guajava* en futuros planes de propagación masiva, considerando que esta última especie es sumamente susceptible a ciertos factores bióticos y abióticos antagónicos, lo cual ha afectado la producción frutícola en el país; restaría evaluar la compatibilidad entre estas dos especies para la propagación por injertación.

Comentarios: *P. guineense* puede distinguirse de *P. guajava* por presentar menos de 10 pares de nervaduras, o entre 10 a 16 pares en algunos casos. Otro carácter diferencial lo constituye el tipo de inflorescencia; ésta especie presenta flores solitarias o cimas bíparas, pero nunca ambas, como en *P. guajava*. El número de sépalos es igual a 5, y las estípulas son persistentes, a diferencia de *P. guajava* en la cual son caedizas. Anatómicamente, en la sección transversal de la lámina foliar, a nivel adaxial, se puede observar la presencia de dos estratos celulares a nivel sub-epidérmico, en pocos casos tres, como es más común en *P. guajava*.

En cuanto a la presencia de flavonoides, en *P. guineense*, al igual que en *P. guajava*, se detectó miricetina, kaempferol y luteonina, no obstante, como ya se comentó, éste último se encontró en un menor número de ejemplares en comparación con *P. guajava*.

Ejemplares examinados

G. Rivero, D. Pacheco, A. Sánchez, G. Sthormes: 3027, 3339, 3359, 3364, 3368, 3369, 3383, 3384, 3385, 3386, 3388, 3389 HERZU; C. Benítez, F. Rojas y E. Melqueiro: 3500 MY; B. Trujillo, L. Cárdenas, A. Alfonzo: 0010 MY; V. Badillo: 2136, 3796 MY; C. E. Benítez: 565 MY; L. Cárdenas: 1956, 2792, 1634 MY; F. Deslacio y R. Liesner: 6932 MY; B. Trujillo y M. Ponce: 18779 MY; J. Monsalve y G. Bonilla: 24395 MY; Standem: 121 MY; L. Trocel: 2, 4, 5, 6, 7 MY; O. Huber y C.

Alarcón: 6604, 6555 MY; G. Ferrari: 1529 MY; B. Trujillo: 14341, 5673, 5991, 1046, 2249, 3934, 4326, 13128, 3934 MY; N. Ramírez: 2144, 2166 MY; M. Ramia y B. Trujillo: 2735 MY; Velasco: 83, 132 MY; B. Trujillo, M. Ponce, D. Marín y R. Parra: 16884 MY; Ljjasz: 228 MY; Velasco y Ramia: 445 MY; M. Ramia: 1159 MY; M. Ramia y Doreste: 604 MY; P. Montaldo: 3168 MY; A. Ramos: 89 MY; P. de Layrisse: 1 MER; Z. Jiménez, B. Márquez y L. Villarreal: 434 MER; L. Ruíz Terán: 1586, 501 MER; E. Little: 15299 MER; Bernardi: 296 MER; G. Davidse: 4169 VEN; R. Ortiz y M. Ramia: 2732 VEN; G. Bunting: 5531, 5435 VEN; L. Aristeguieta: 14632 VEN; J. Bono: 4886 VEN; B. Milano, G. Vale, J. Raggi y M. Ponare: 1536 VEN; M. Fucci: 7133 VEN; J. Cooper: 950 VEN; H. Van Der Werff y R. Ortiz: 5599 VEN; R. Pursell: 8615: VEN; W. Meier, C. Bohn y O. Kunert: 5262 VEN.

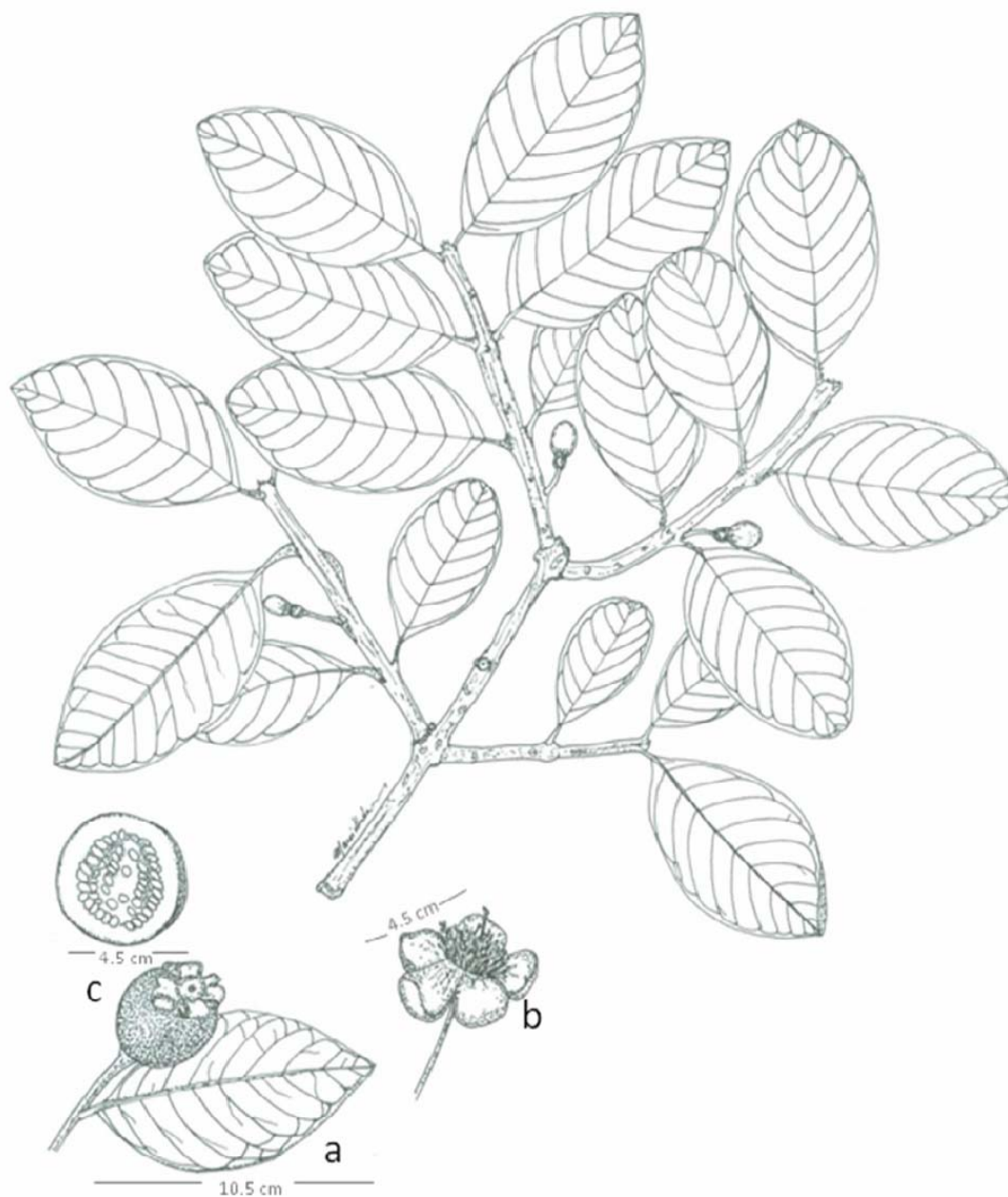


Figura 5. *Psidium guineense* Sw. a) Lámina foliar de forma elíptica; número de pares de nervaduras menor a 16 pares; b) flor solitaria de 5 pétalos; pedicelo de 0,9 a 2,15 cm de longitud; c) frutos de forma esférica, con gran número de semillas; relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz entre 25 y 50%. Ejemplares de respaldo: L. Trocel: 4 MY; P. de Layrisse: 1 MER; R. Pursell, C. Curry, P. Kremer: 8615 VEN.

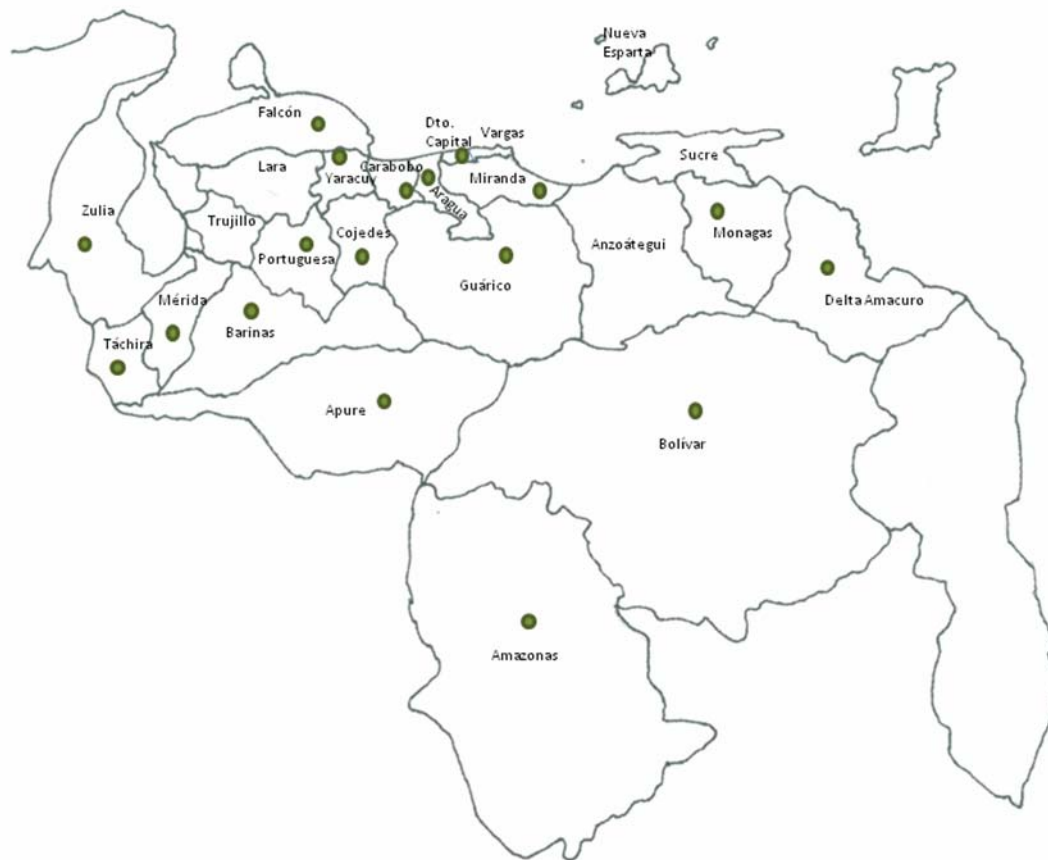


Figura 6. Distribución de *Psidium guineense* en Venezuela

***Psidium maribense* DC.**, Prodr. 3: 233. 1828.

“Guayabito de agua”, “Guayabo blanco”, “Guayabo tortuguero”. Figura 7.

Morfología vegetativa: Arbusto ó árbol hasta de 4 m de altura; hojas erectas, con márgenes crenados, de forma oval o elíptica, de 3 a 5 cm de longitud y 1 a 2 cm de ancho, relación largo/ancho media o alta, con un número medio de pares de nervaduras (entre 10 y 16 pares) (figura 7a), curvatura del nervio medio ausente, pubescencia esparcida en ambas superficies foliares; estípulas caedizas; filotaxia opuesta.

Inflorescencia: Flores solitarias (figura 7b), pétalos de 1,5 cm de largo y 0,8 a 1,2 cm de ancho; 4 sépalos, relación largo/ancho de los sépalos igual a 2,61; pedicelo de 0,5 a 1,5 cm.

Frutos: Forma esférica, tamaño promedio igual a 1-2 cm de largo y 0,9 a 2,5 cm de ancho, relación de 0,8 a 1,1, de textura rugosa, ápice en forma de ombligo, base cóncava, inserción del pedúnculo vertical; relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz menor a 25% (figura 7c).

Anatomía de la lámina foliar: Epidermis simple, de células ovaladas, recubriéndolas una cutícula de 2,58 μm de grosor, las paredes de las células epidérmicas con un espesor de 1,29 μm , estrato epidérmico adaxial mayor con respecto al abaxial, presencia de un estrato sub-epidérmico en posición adaxial; hojas anfiestomáticas, con mayor número de estomas en superficie abaxial; estomas paracíticos de dimensiones 14,22 μm de ancho x 17,58 μm de longitud, distribuidos uniformemente en el área foliar, con una densidad de 14,6 estomas $\cdot 21571\mu\text{m}^{-2}$; tricomas unicelulares con 97,24 μm de longitud. Mesófilo bifacial, presentando un parénquima en empalizada con células de forma elíptica, de 29,43 μm de grosor, el espesor promedio del parénquima esponjoso fue 31,14 μm , el cual se observó poco diferenciado; presencia de drusas. Cavidades secretoras de forma circular, localizadas en ambas superficies de la lámina foliar, consiguiéndose un promedio de 0,50 cavidades $\cdot 21571\mu\text{m}^{-2}$, las cuales por su diámetro (69, 85 μm) ocuparon gran parte de la sección transversal de la lámina;

las células que las rodean con márgenes sinuosos. Nervadura central de forma plano-convexa, con haz vascular bicolateral en forma de arco, células parenquimáticas que rodean al haz vascular principal de forma isodiamétrica; haces vasculares secundarios ausentes.

Flavonoides determinados: De los flavonoides analizados, únicamente se detectó miricetina.

Distribución geográfica: Se localiza en los estados: Anzoátegui, Apure, Aragua, Barinas, Bolívar, Delta Amacuro y Guárico (figura 8).

Hábitat: Arbusto gregario localizado normalmente a orillas de ríos, así como en suelos sometidos a inundación. Es una planta común en vegetación arbustiva ribereña, asociándose a suelos arenosos. Se localiza entre los 50 a 100 m de altitud.

Usos: Los frutos son consumidos por algunos animales como las tortugas.

Comentarios: Las hojas con márgenes crenados de esta especie no son frecuentes en la familia Myrtaceae (Bruce *et al.*, 2003). De las observaciones anatómicas realizadas en la presente investigación se determinó que las hojas de esta especie fueron anfiestomáticas, aunque se evidenció mayor número de estomas en la superficie abaxial de la lámina foliar, así como también se observó en *P. sartorianum*. Otro carácter de interés lo representó la gran sección transversal que ocuparon las cavidades secretoras en *P. maribense*, presentando el mayor diámetro de estas estructuras, en las especies evaluadas y pudiéndose considerar como un rasgo característico de la misma; en este sentido es importante destacar que la especie *P. acutangulum* presentó el segundo mayor valor del diámetro de estas células el cual fue 62,97 μm . Con relación a la detección de flavonoides, *P. maribense* presentó sólo miricetina, estando presente en 100% de los individuos analizados.

Ejemplares examinados

L. de Guevara: 2251, 2261 MY; Tamayo: 4550 MY; R. Gómez: 329 MY; M. Ponce y B. Trujillo: 472 MY; Tamayo: 4550 MY; B. Trujillo: 3990, 11686 MY; M. Ponce y D. Marín: 725 MY; R. Gómez y M. Bevilacqua: 329 MY; Sin colector: 73 MY; G. Davidse y A. González: 14709, 12862 VEN y 12862 MER; N. Ramírez: 709 VEN.

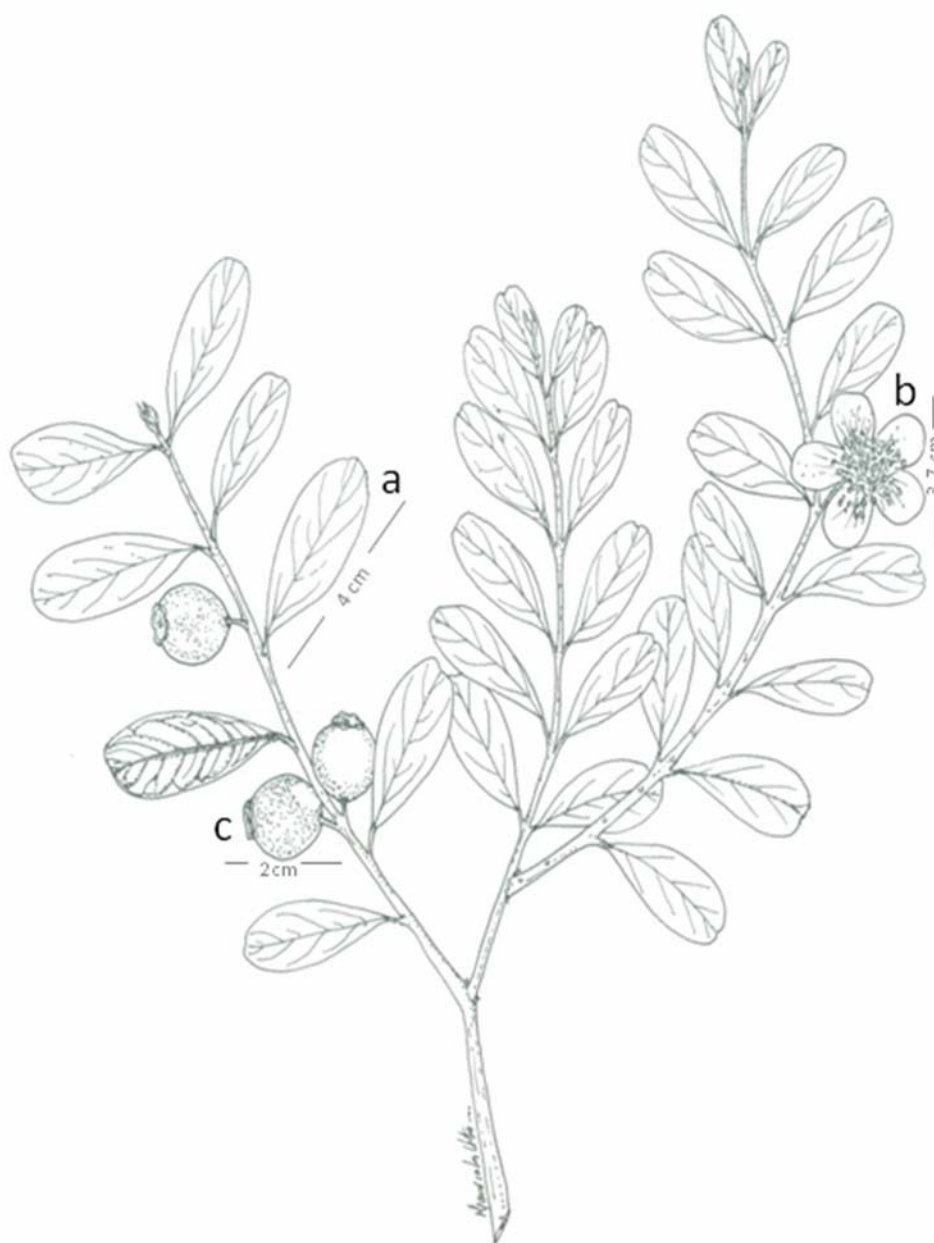


Figura 7. *Psidium maribense* DC. a) lámina foliar de forma oval, márgenes crenados; número de pares de nervaduras medio; b) flor solitaria; c) frutos esféricos; relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz menor a 25%. Ejemplares de respaldo: B. Trujillo; 3990 MY; T. Koyama y G. Agostini: 7217; N. Ramírez: 709 VEN.

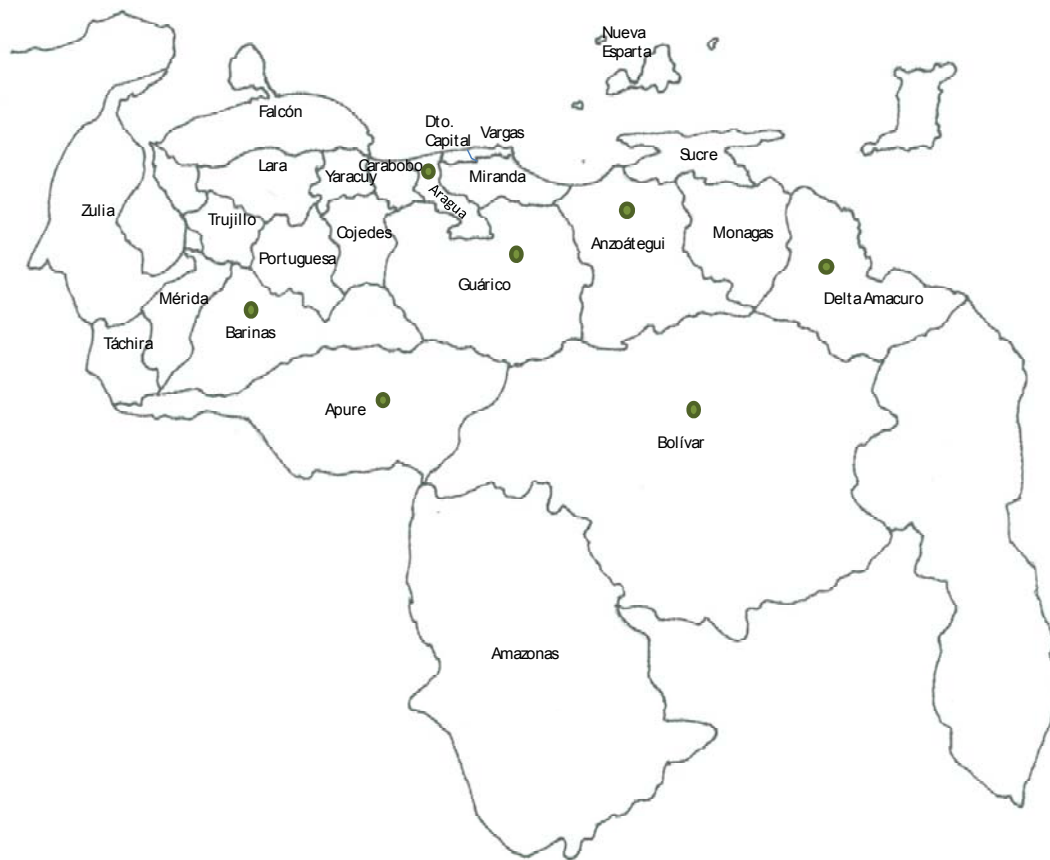


Figura 8. Distribución de *Psidium maribense* en Venezuela

***Psidium salutare* (Kunth) O. Berg**, Linnaea 27: 356. 1856. –*Myrtus salutaris*
H.B.K., Nov. Gen. Sp. (quarto ed.) 6: 132. 1823.

“guayabita”, “guayabo rajado”, “guayabita del pinar”. Figura 9.

Morfología vegetativa: Arbusto ó sub-arbusto de 1 a 1,5 m de alto, de raíces leñosas y retorcidas, brotes nuevos originándose de un rizoma o tallo subterráneo leñoso; brotes o ramas jóvenes de cilíndricas a cuadrangulares con ángulos escasamente alados; hojas coriáceas, erectas, levemente curvas, de forma ovadas, lanceoladas, elípticas, estrechamente elípticas, obovada, oblanceolada, 2 a 9 cm de largo y de 1,5 a 5,5 cm de ancho, relación largo/ancho de la hoja media, ápice obtuso, agudo a acuminado, abruptamente acuminado, algunas veces apiculado, base cuneada, obtusa o redondeada, ausencia de curvatura del nervio medio, o ligeramente convexa, venas laterales inconspicuas, número de pares de nervaduras de medio a bajo (entre 10 y 16 pares o menor a 10) (figura 9a), pubescencia esparcida en ambas superficies de las hojas jóvenes, pecíolo menor a 2 mm de longitud; estípulas caedizas; filotaxia opuesta decusada.

Inflorescencia: Flores solitarias o en cima bípara, acompañadas por brácteas, 5 pétalos de 0,61 cm de largo y 0,38 cm de ancho, 5 sépalos de 1,34 cm de longitud, relación largo/ancho de los sépalos igual a 1,6; cáliz profundamente lobulado; pedicelo de 1 a 1,5 cm de longitud (figura 9b).

Frutos: de forma esférica, verde-amarillentos, hasta 1,5 cm de diámetro (figura 9c); semillas de 4 a 8 mm de longitud, en número de 4 a 20,.

Anatomía de la lámina foliar: Cutícula de 7,27 μm de espesor, en epidermis simple con células de forma oval, con paredes celulares de 3,38 μm de grosor en promedio y con estrato epidérmico adaxial mayor que el abaxial; un estrato sub-epidérmico presente. Mesófilo bifacial, parénquima en empalizada con células de forma elíptica, cuyo espesor fue de 45,05 μm , parénquima esponjoso diferenciado, ocupando un espacio de 74,62 μm en promedio. Presencia de drusas con cristales prismáticos. Cavidades secretoras de forma circular, distribuidas tanto en la superficie adaxial como en la abaxial de la lámina,

obteniéndose $0,52 \text{ cavidades} \cdot 21571 \mu\text{m}^{-2}$, con células adyacentes de paredes sinuosas y midiendo un diámetro promedio de $36,11 \mu\text{m}$. Nervadura principal de forma biconvexa, tipo de haz vascular bicolateral, haz vascular casi plano, con fibras pericíclicas; forma de las células parenquimáticas en el haz de forma isiodiamétrica.

Flavonoides determinados: miricetina y luteonina.

Distribución geográfica: Amazonas, y Guárico según la revisión de ejemplares herborizados. De acuerdo a Bruce *et al.* (2003), la especie *P. salutare* también se encuentra en los estados, Apure, Barinas, Bolívar, Cojedes, Lara, Mérida, Monagas, Portuguesa, Sucre y Zulia (figura 10).

Habitat: Es un arbusto común en pastizales, sabanas disturbadas, bosques de galería, cerros rocosos, y suelos pobres en general, preferiblemente entre 50-500 m y hasta 1000 m; adaptado a incendios frecuentes en las sabanas. Suele encontrarse formando pequeños grupos e individuos aislados. El clima en el cual se desarrolla alterna estaciones secas y lluviosas, con temperaturas altas. Comúnmente asociado con otros géneros de Myrtaceae, tales como *Campomanesia*, *Eugenia* y *Myrcia*. En el estado Zulia, Landrum (2003), según revisiones de ejemplares herborizados (Steyermark *et al.*: 105766 MICH), lo reporta para la Sierra de Perijá, en los alrededores de Pishikakao, a altitudes entre 400 y 1850 msnm; no obstante, no se localizó en el recorrido efectuado para la recolecta de muestras vegetales frescas, al igual que *P. sartorianum*.

Usos: Los frutos son comestibles; en algunos países Centroamericanos y del Caribe, se emplean para la fabricación de licores, teniendo este producto, una alta demanda en los mercados locales e internacionales.

Comentarios: Según ciertos autores *P. salutare* representa un complejo de entidades que agrupa taxa supra y subespecíficos. Landrum (2003), realizó una revisión de esta especie, describiendo aspectos morfológicos, así como de distribución geográfica, considerándola como el Complejo *Psidium salutare*, el cual incluye especies comúnmente aceptadas como *P. laruotteanum* y *P. salutare*, ésta

última con cinco variedades relacionadas a regiones geográficas; el autor reconoce que los límites entre estas variedades no están claros y que pueden representar morfotipos que corresponden a síndromes adaptativos de caracteres a determinados nichos; estas variedades reconocidas por Landrum son consideradas especies por otros taxónomos.

Según este autor el complejo *P. salutare* puede ser distinguido de las otras especies del género por las siguientes características: arbusto o sub-arbusto, raramente puede alcanzar tamaño de árbol en algunas poblaciones, como la forma observada en una localidad de Puerto Ayacucho (Estado Bolívar), que alcanzó los 10 m de altura (Bruce *et al.* 2003); se desarrolla principalmente en hábitat de pastizales o arbustiva baja, frecuentemente quemados; habilidad para rebrotar desde los tallos subterráneos después de estar sometida a fuego; hojas con venación broquidódroma, con una nervadura marginal bien marcada que forma con las venas terciarias un patrón reticulado-dendrítico; yemas florales relativamente pequeñas (4-9 mm), con un cáliz abierto; placenta peltada, con uno o dos filas de óvulos sobre el borde de cada lámina.

Algunas plantas con características tales como hojas de forma obovada o elíptica, nervaduras prominentes, pedúnculos y ramas densamente pubescentes y yemas grisáceas pueden representar híbridos entre ésta especie y otras especies de *Psidium* como *P. guineense*.

Anatómicamente, de acuerdo a las observaciones realizadas en esta tesis, existen algunos caracteres que pueden contribuir a la distinción de esta especie; uno de ellos corresponde a la forma del haz vascular central el cual fue casi plano, lo cual pudiera relacionarse con la ausencia de curvatura en la nervadura principal; esta forma de haz también se evidenció en *P. sartorianum*. Otro aspecto resaltante lo representó el espesor tanto de la cutícula como de la pared de la célula epidérmica, cuyos valores (7,27 μm y 3,38 μm , respectivamente) constituyeron los más altos en comparación con todas las especies evaluadas. Asimismo, *P. salutare* registró el mayor valor de espesor del mesófilo (119,68 μm); todo lo cual

incrementa el espesor de la lámina foliar, determinando hojas coriáceas que predominan en ambientes austeros como en los que crece esta especie.

Ejemplares examinados

Sin colector: 2182, 2183, 2184 MY; L. Aristeguieta y F. Deslacio: 14552 VEN; T. Plowman y F. Guánchez: 13756 VEN.

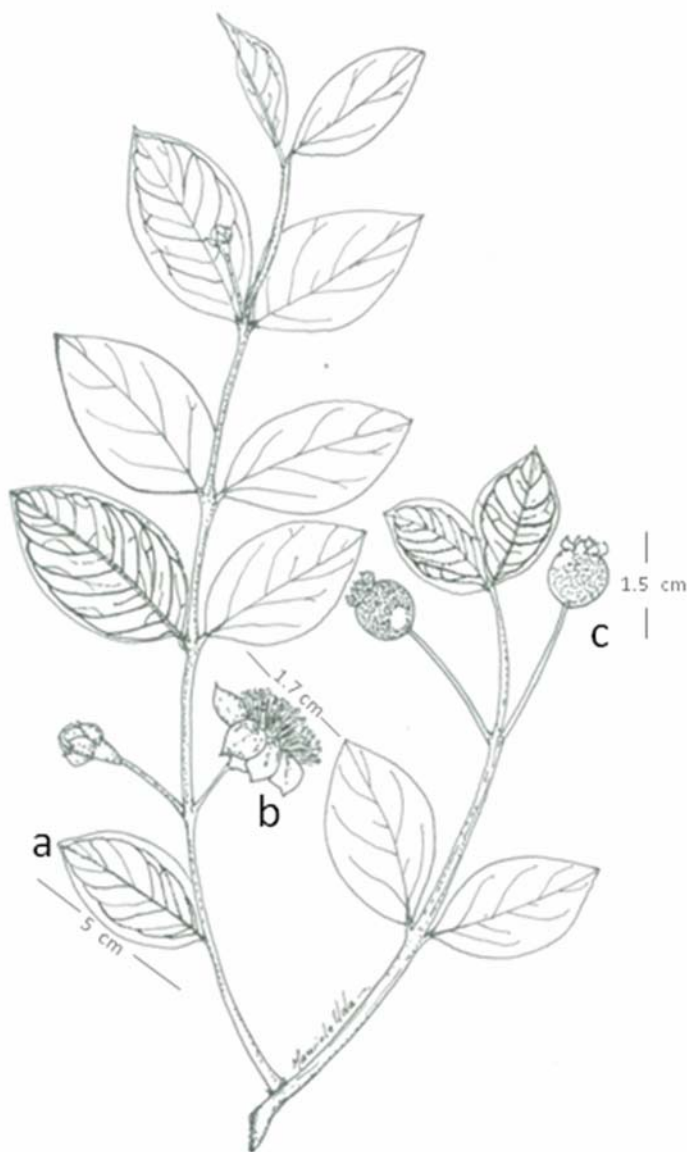


Figura 9. *Psidium salutare* (Kunth) O. Berg. a) lámina foliar de forma ovada; número de pares de nervaduras menor o igual a 16 pares; pecíolo menor a 2 mm de longitud; b) flor solitaria; pedicelo de 1 a 1,5 cm de longitud; c) fruto esférico, de 1,5 cm de diámetro polar. Ejemplares de respaldo: Ramia y Madriz: 2871 MY; L. Aristeguieta y F. Delascio: 14552 VEN.



Figura 10. Distribución de *P. salutare* en Venezuela

***Psidium sartorianum* (O. Berg.) Nied.** In Engl. & Prantl, Nat. Pflanzenfam.

“Guayabita del Perú”. Figura 11

Morfología vegetativa: Arbusto ó árbol de hasta 25 m de alto, con un moteado suave en la corteza; ramas e inflorescencia medianamente pubescentes; hojas erectas, de forma elíptica u oblonga, ocasionalmente obovada, con una longitud de 2,8 a 5 cm y 1,2 a 1,4 cm de ancho, relación largo/ancho media o alta, ápice desde acuminado a agudo u obtuso, la base aguda a redondeada o cuneada, con menos de 10 pares de nervaduras (figura 11a), la nervadura media siempre pubescente en las hojas jóvenes, y en la lámina foliar pubescencia esparcida a glabra; pecíolo de 0,15 a 0,4 cm; estípulas persistentes; filotaxia opuesta decusada.

Inflorescencia: Flores solitarias, o en cimas bíparas (figura 11b), 4 pétalos de 0,3 a 0,4 cm de largo y 1,1 cm de ancho, blancos, sub-orbiculares; 5 sépalos, cáliz caliptrado; pedicelo de 0,8 a 1,3 cm de longitud.

Fruto: Forma esférica o piriforme, de 0,8 a 1,3 cm de largo y de 0,8 a 0,9 cm de ancho, relación largo/ancho de 1 a 1,4, epicarpo con textura rugosa, de color amarillo brillante o amarillo verdoso a la madurez, el mesocarpo amarillo cremoso, forma del ápice cóncava y la base con cuello, inserción del pedúnculo de forma oblicua; relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz mayor a 50% (figura 11c); semillas de 1 a 2 en cada lóculo, de 7 a 8 mm de longitud, testa ósea y embrión en forma de “C”.

Anatomía de la lámina foliar: Cutícula de 2,88 μm de grosor recubriendo la epidermis uniestratificada de células con forma oval y espesor de la pared igual a 1,43 μm , epidermis adaxial de mayor tamaño con respecto a la abaxial, presencia de un estrato sub-epidérmico; estomas paracíticos distribuidos uniformemente en ambas superficies de la lámina foliar, en mayor número en superficie abaxial, midiendo 15,75 μm de longitud y 12,20 μm de ancho, densidad estomática igual a 13,70 estomas $\cdot 21571\mu\text{m}^{-2}$; tricomas unicelulares de 293,75 μm de longitud, esparcidos en los márgenes de la lámina foliar. Mesófilo bifacial,

células de parénquima en empalizada de forma elíptica y parénquima esponjoso diferenciado, ambos midieron en sección transversal 41,78 μm y 74,19 μm , respectivamente; presencia de drusas con cristales prismáticos. Cavidades secretoras distribuidas en ambas superficies de la lámina, de forma circular, presentando un diámetro promedio igual a 58,53 μm , se registraron 0,55 cavidades $\cdot 21571 \mu\text{m}^{-2}$, células parenquimáticas adyacentes a éstas de contornos sinuosos. Nervadura principal de forma plano-convexa o biconvexa, haz vascular bicolateral, en forma casi plana; haces vasculares secundarios ausentes; células parenquimáticas que acompañan el haz vascular principal de forma isodiamétrica; presencia de fibras pericíclicas.

Flavonoides determinados: En esta especie se detectaron los flavonoides miricetina y luteonina.

Distribución geográfica: Según las excsiccata revisadas, esta especie se encuentra en: Aragua, Distrito Capital, Lara, Miranda y Sucre. De acuerdo a Bruce *et al.* (2003), *P. sartorianum* también se localiza en Bolívar, Falcón, Monagas y Zulia (Figura 12).

Hábitat: Crece en condiciones de bosque seco tropical como arbusto deciduo secundario; también es frecuente en sábanas, bosques de galería y bosques montano bajo; se adapta a suelos pedregosos. Se desarrolla en una amplia variedad de hábitat, desde ambientes sombreados hasta muy soleados. Según Bruce *et al.*, (2003) es más común entre 500-600 m, pero se puede encontrar desde 20 hasta 1500 m. Aún cuando ésta especie se ha reportado para el estado Zulia, en el recorrido que se realizó para la recolecta de plantas, la misma no fue localizada, desconociéndose las condiciones ambientales en las cuales se desarrolla en las localidades visitadas de esta entidad.

Usos: Poseen potencial como rubro frutícola para productos procesados; los frutos se asemejan a los de la guayaba tanto en sabor como en color, pero más pequeños y por lo tanto con menos mesocarpio; son usados para hacer

conservas. En Brasil sus tallos son utilizados para la elaboración de artesanías (Franzon *et al.*, 2009)

Comentarios: Se refieren algunas sub-especies (segregaciones) de *P. sartorianum*, tales como *P. sartorianum* var. *yucatenense* Mc Vaugh (*P. yucatenense* Lundell), que se distingue por que las plantas son escasamente pubescentes o completamente glabras y hojas de tipo lanceolada, localizada en Honduras, Yucatán y en Cuba, originalmente descrita como *Calycorectes protractus* Griseb; otra es *P. molinae* Amshoft de Honduras, que se reconoce porque las hojas son más obtusas y el cáliz en la yema es de cuatro lóbulos en lugar de caliptrado. Por otro lado, se ha referido que *P. sartorianum* probablemente no sea distinta a *P. galapaeum* de las Islas Galápagos, en cuyo caso el nombre de esta última tendría prioridad. Todo esto apoya lo que se ha comentado acerca de algunas especies de *Psidium*, con relación a que algunas representan un complejo de entidades, lo cual ha dificultado su circunscripción genérica.

De acuerdo a las observaciones realizadas en esta tesis, como características importantes que contribuirían a identificar esta especie se pueden considerar la presencia de hojas anfiestomáticas (aunque con mayor número de estomas en la superficie abaxial), y fitoquímicamente, el hecho de que posean en sus hojas los flavonoides miricetina y luteonina, los cuales se detectaron en todos los individuos analizados.

Ejemplares examinados

B. Trujillo: 5645, 5566, 6755, 3437 MY; J. Serrano: 2 MER; F. Fernández-Yépez: 1106 MY; N. Ramírez y M. López: 3295, 3475 VEN; J. Steyermark, B. Manara y G. Morillo: 108734 VEN; J. Steyermark: 91804, 94291 VEN.



Figura 11. *Psidium sartorianum* (O. Berg.) Nied. a) lámina foliar de forma elíptica; número bajo de pares de nervaduras; b) flor solitaria; c) fruto de forma esférica; relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz mayor a 50%. Ejemplares de respaldo: Steyermark: 94291 VEN; N. Ramírez y M. López: 3295 VEN.

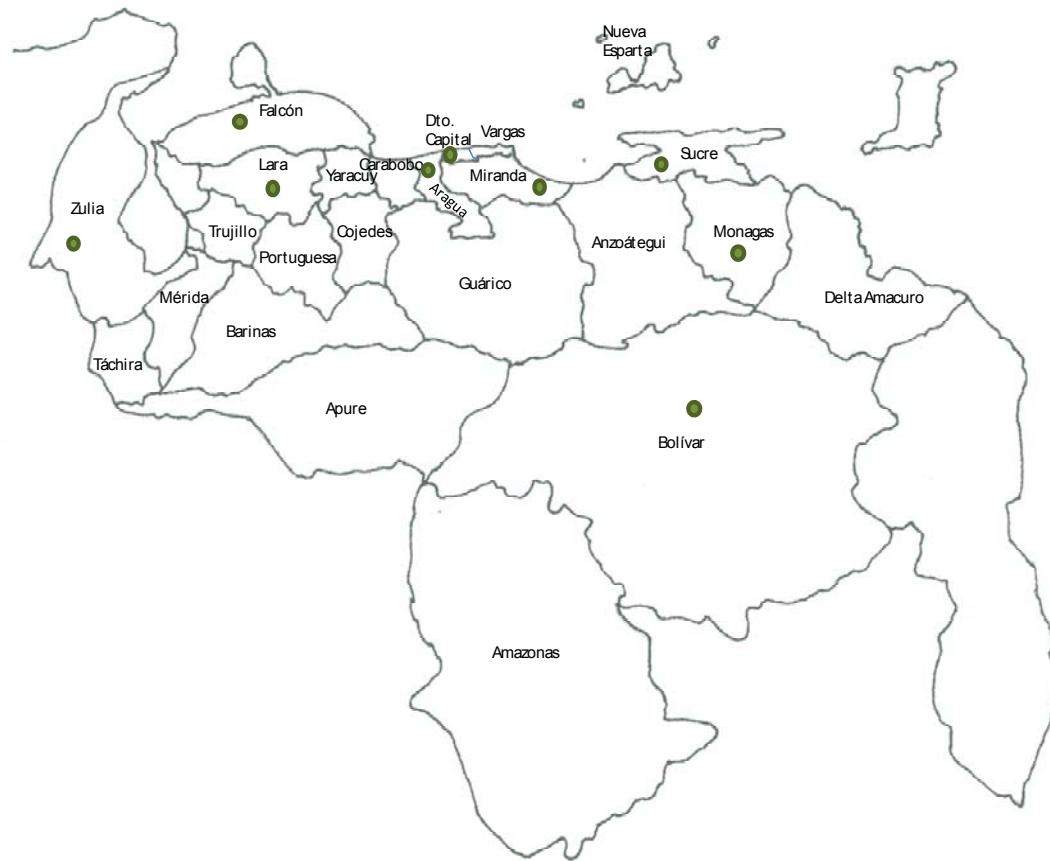


Figura 12. Distribución de *P. sartorianum* en Venezuela

***Calycolpus moritzianus* (O. Berg) Burret.** Repert. Spec. Nov. Regni Veg. 1: 57. 1941.

“Cínaro”, “Cínare”, “Jumangue”. Figura 13.

Morfología vegetativa: Arbusto ó árbol de aproximadamente 15 m de alto, hojas erectas, elípticas o lanceoladas, longitud de 4,5 a 7,5 cm y 1,5 a 2,5 cm de ancho, relación largo/ancho de la hoja mayor a 50%, leve o medianamente curvas, con más de 16 pares de nervaduras (figura 13a); estípulas persistentes; filotaxia opuesta decusada.

Inflorescencia: Flores solitarias, algunas veces cimas bíparas, pentámeras, pétalos de 1,5 cm de longitud y 0,7 cm de ancho; 5 sépalos de 1,5 cm de largo y 0,7 cm de ancho; pedicelo de 2,5 a 3,2 cm de longitud.

Fruto: esférico, de textura rugosa; ápice en forma de ombligo; base cóncava; inserción del pedúnculo vertical; relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz entre 25 y 50% (figura 13b).

Anatomía de la lámina foliar: Epidermis uniestratificada de células con forma rectangular y espesor de cutícula y pared celular de 3,90 μm y 1,51 μm , respectivamente; epidermis adaxial mayor que la abaxial; estratos celulares subepidérmicos ausentes. Estomas paracíticos distribuidos uniformemente en hojas hipoestomáticas, midiendo 20,92 μm de longitud y 41,26 μm de ancho; densidad estomática igual a 9,14 estomas $\cdot 21571\mu\text{m}^{-2}$; tricomas unicelulares de 127,25 μm de longitud, evidentes principalmente en el envés, a nivel de la nervadura principal. Mesófilo bifacial, con células de parénquima en empalizada de forma alargada, que ocupan 62,42 μm de la sección transversal, parénquima esponjoso diferenciado, abarcando un espesor de 83,58 μm . Número de cavidades secretoras igual a 0,62 cavidades $\cdot 21571\mu\text{m}^{-2}$, de forma circular, las cuales presentaron un diámetro promedio igual a 45,35 μm , distribuidas en ambas superficies de la lámina foliar, células adyacentes a éstas cavidades de contornos sinuosos. En la región del mesófilo se observaron idioblastos. Forma de la nervadura principal diferente a la biconvexa, plano-convexa ó cóncavo-convexa;

haz vascular principal de tipo bicolateral, en forma de arco, bordeado por fibras y células parenquimáticas de forma isodiamétrica; haces vasculares secundarios presentes.

Flavonoides determinados: En esta especie se detectaron los flavonoides kaempferol, miricetina y luteonina.

Distribución geográfica: El género *Calycolpus* agrupa 12 especies de las cuales seis se encuentran en Venezuela; estas se distribuyen principalmente en los estados Amazonas y Bolívar, como *C. bolivarensis* y *C. roraimensis* que son endémicas de éste último estado; sólo *Calycolpus moritzianus* se reporta fuera de la Guayana venezolana, específicamente en los estados andinos y en Lara (Hokche *et. al.*, 2008) (figura 14), lo cual se corroboró en el recorrido de campo efectuado para esta tesis, evidenciándose su presencia en los estados Mérida y Táchira, no así en las zonas bajas de Trujillo.

En Mérida se recorrieron los municipios Santos Marquina y Campo Elías, específicamente las localidades de “Cacute”, “El Salado Alto”, “El Minual” y el parque “La Mucuy”, con alturas que oscilaron entre 1750 a 1880 msnm. En el estado Táchira, los municipios visitados fueron Seboruco y Jáuregui, en donde se recolectaron plantas en las localidades de “La Fría”, “La Grita”, “Pueblo Hondo”, “Sabana Larga”, “La Mesa”, “El Cobre” y el páramo “El Zumbador”, variando la altitud de 560 a 2340 msnm.

Hábitat: *Calycolpus moritzianus* se localiza en altitudes desde 400 hasta 1200 m, en vegetación de selva templada, bosque de quebrada y bosque subtropical secundario; se adapta muy bien a lugares secos, con alta luminosidad y grandes pendientes. Según Pérez-Cortéz (2007), esta especie presenta una amplitud altitudinal que oscila entre 70 y 2350 msnm.

Durante las recolectas de campo se observó a esta especie creciendo exuberantemente y en altas poblaciones, sobre todo a mayor altura, en condiciones de bosque nublado. Según Aranguren y Márquez (2011), *C. moritzianus*, al igual que *P. guajava*, son especies que forman parte de los

bosques naturales del estado Mérida, siendo el “Cínaro” o “Cínare”, nombre común que se le adjudica a la primera especie, una de las plantas más comunes de esta entidad, lo cual se lo atribuye a la composición florística de los bosques adyacentes a cada localidad y a la interacción directa de sus habitantes con estos bosques, en la cual se desarrollan actividades agrícolas, pecuarias y de extracción.

Usos: La madera de esta planta se utiliza para la fabricación de muebles rústicos, por su dureza y resistencia, así como para la elaboración de instrumentos y herramientas, tales como mazos, arados para bueyes, entre otras. En un estudio realizado en Bailadores, estado Mérida, para conocer la utilidad que los pobladores le dan a las plantas de esa región, se le otorgó un uso comestible alto a esta especie, sin especificar de qué forma se utiliza (Aranguren y Márquez, 2011).

Comentarios: Las siguientes características permitieron diferenciar a *C. moritzianus* de las especies de *Psidium* cuando se realizó el análisis anatómico foliar: células epidérmicas comunes rectangulares, ausencia de estratos sub-epidérmicos, la nervadura central presentó formas diferentes a las observadas en las especies de *Psidium*, las cuales fueron biconvexa, plano-convexa o cóncavo-convexa, y un último rasgo no menos importante fue la presencia de haces vasculares secundarios, mientras que las especies de *Psidium* presentaron un único haz vascular central.

Según Mc Vaugh (1968), actualmente *Calycolpus* forma un taxón homogéneo que se separó de *Psidium* por las características del cáliz como fueron descritas por Berg y Riley, y de *Myrtus* por el tipo de floración y características del ovario; las flores son producidas en racimos axilares muy cortos como en el género *Eugenia*, generalmente de sólo un par de ejes florales opuestos, pero en algunos casos tres o más pares; sus flores son grandes, vistosas y carnosas; el ovario presenta de 4 a 5 lóculos.

Ejemplares examinados

G. Rivero, D. Pacheco, A. Sánchez, G. Sthormes: 3315, 3316, 3325, 3326, 3327, 3328, 3332, 3333, 3334, 3335, 3343, 3345, 3346, 3347, 3348, 3349, 3351, 3353, 3358 HERZU; E. Little: 15502, 15887 MER; J. Camacho y L. Liscano: 3 MER; J. Fernández: 32 MER; R. Guevara: 40 MER; P. Salcedo y J. Camacho: 159 MER; J. Rondón: 5 MER; M. Ataroff: 153 MER; J. Bautista: 3023 MER; N. Rollet: 981-065 MER; R. Armas y M. Rodríguez: 22 MER; L. Ricardi y P. Salcedo: 5730 MER; L. Berti: 839 MER; A. Quintero y M. Ricardi: 497 MER; Ijjasz-Madriz: 279 VEN; G. Davidse y A. González: 21134 VEN (Especímenes originalmente identificados como *P. caudatum*);



Figura 13. *Calycolpus moritzianus* (O. Berg) Burret. a) lámina foliar de forma elíptica a lanceolada; número de pares de nervaduras mayor a 16 pares; b) frutos esféricos; relación diámetro del fruto/diámetro del cáliz entre 25 y 50%. Ejemplares de respaldo: G. Rivero, D. Pacheco, A. Sánchez y G. Sthormes: 3326 HERZU; R. Armas y M. Rodríguez: 22 MER.

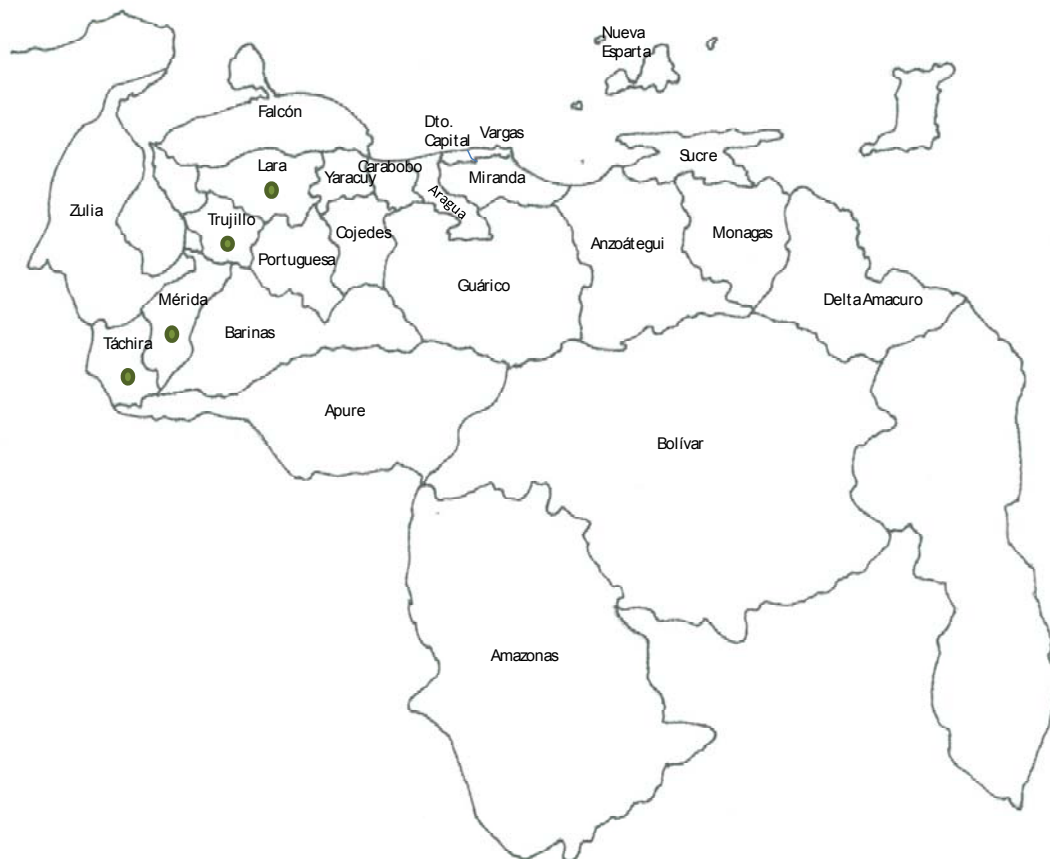


Figura 14. Distribución de *Calycolpus moritzianus* en Venezuela

LITERATURA CONSULTADA

Aranguren A. y N. Márquez. 2011. Etnoecología de las especies vegetales de los bosques estacionalmente secos del estado Mérida. *Ethnobotany Research and Applications* 9: 307-323.

Bruce, H., L. Landrum y F. Grifo. 2003. Myrtaceae-Plumbaginaceae. 1-99 pp. En: *Flora of the Venezuelan Guayana*. Berry, P., B. Holst, y K. Yatskievych (Eds.). Missouri Botanical Garden Press., Oregon. Vol. 7.

Franzon R., L. De Oliveira, C. Barnes y J. Sousa. 2009. Aracás do Gênero *Psidium*: principais espécies, ocorrência, descrição e usos. Embrapa, Documentos 266, 9-48 pp.

Gomes, S., N. Somavilla, K. Gomes-Bezerra, S. do Couto, P. De-Carvalho y D. Graciano-Ribeiro. 2009. Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomía e filogenia. *Acta Botanica Brasilica*. 23: 223-238.

Hokche, O., P. Berry y O. Hubber. 2008. Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. 859 p.

Landrum L. y W. Sharp. 1989. Seed coat characters of some American Myrtinae (Myrtaceae): *Psidium* y related genera. *Systematic Botany* 14: 370-376.

Landrum L. y M. Kawasaki. 1997. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. *Brittonia*, 49:508-536.

Landrum, L. 2003. *Flora of the Venezuelan Guayana*, Volume 7, Myrtaceae-Plumbaginaceae, Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.

Lapenna E., G. Medina, L. Díaz, K. Aguillón y H. Marín. 2003. Actividad bactericida y fungicida de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional venezolana. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel* 34:1.

Martens R. 1999. Una aproximación antropológica a la enfermedad de la Leishmaniasis en la cordillera andina de Mérida. *Revista Talleres*. Publicación N°6.

Mc Vaugh, R. 1956. Tropical American Myrtaceae. Notes on generic concepts and descriptions of previously unrecognized species. Fieldiana: Botanica 29: 145-228.

Mc Vaugh, R. 1963. Tropical American Myrtaceae, II, Notes on generic concepts and descriptions of previously unrecognized species. Fieldiana 29: 393-532.

Mc Vaugh, R. 1968. The genera of American Myrtaceae- An Interim report. Taxon. 17(1): 354-415.

Pérez-Cortéz, S. 2007. Géneros *Calycolpus*, *Calycorectes* y *Myrciaria* (Myrtaceae) en el Herbario Nacional de Venezuela (VEN). Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). 24. Supl. 1: 196-201.

Rivero G., Pacheco D., Fuenmayor J., Sánchez A., Quirós M., Ortega J., Bracho B. y J. Taborda. 2012. Análisis morfológico de especies de *Psidium* (Myrtaceae) presentes en Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ) 29:72:103.

Sánchez-Urdaneta, A. y C. B. Peña-Valdivia. 2011. Descriptor morfológico para la caracterización del género *Psidium*. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ) 28:303-343.

Vargas, D., M. Soto, V. González, E. Englenman y A. Martínez. 2006. Cinética de acumulación y distribución de flavonoides en guayaba (*Psidium guajava* L.). Agrociencia 40: 108-114.

Conclusiones generales

1. En el análisis morfológico se pudo evidenciar la existencia de características útiles, principalmente de aspecto vegetativo, que permitieron agrupar o separar a las especies: *Psidium acutangulum*, *P. densicomun*, *P. persoonii*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus*, pudiéndose determinar el grado de afinidad morfológica entre las mismas. Con la información recabada se elaboró una clave taxonómica y la descripción de dichas especies.
2. Mediante análisis numéricos se seleccionaron las características anatómicas del mesófilo y de la epidermis foliar más determinantes en la agrupación de las especies *Psidium acutangulum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus*, contribuyendo a su distinción. Los datos suministrados por el estudio anatómico se emplearon para la descripción anatómica de los taxa mencionados.
3. Los flavonoides que permitieron agrupar a las especies de *Psidium* y a *Calycolpus moritzianus* fueron principalmente: kaempferol, luteonina y miricetina, dicho arreglo varió considerando la presencia y concentración de los mismos.
4. En el análisis fenético aplicado a las especies del género *Psidium* y a *Calycolpus moritzianus*, se integraron todos los caracteres de naturaleza morfológica, anatómica y fitoquímica analizados previamente, con la finalidad de seleccionar los más importantes en la determinación de la semejanza fenotípica entre las mismas. Como resultado se determinó el agrupamiento de la especie *P. guineense* con *P. sartorianum*, *P. acutangulum* y *P. maribense* con *P. guajava*, y *P. salutare* con *Calycolpus moritzianus*. Aunque en menor proporción, en todas estas asociaciones las

especies *P. guajava* y *P. guineense* estuvieron presentes, permitiéndose inferir entre otros aspectos la gran afinidad que poseen. Se recomienda en futuras investigaciones dilucidar este resultado.

5. Con el estudio filogenético mediante caracteres moleculares, se determinó que las especies de *Psidium* evaluadas representaron un clado monofilético; adicionalmente, se constató el grado de evolución que posee este género de las Mirtáceas al compararlo con los taxa incorporados al análisis como grupo externo.
6. En el tratamiento taxonómico realizado se describieron las especies del género *Psidium* reportadas para el occidente de Venezuela, a saber: *P. guajava*, *P. guineense*, *P. salutare* y *P. sartorianum*, así como otras distribuidas en otros estados del país: *P. acutangulum* y *P. maribense*. Igualmente, se caracterizó a la especie *Calycolpus moritzianus* integrada al estudio como especie comparativa. Para la descripción se consideraron los caracteres morfológicos, anatómicos y fitoquímicos analizados en capítulos previos, así como también se incluyeron datos relacionados con la distribución geográfica, hábitat y usos de las especies. Finalmente, se elaboró una clave taxonómica donde se incluyeron los aspectos estudiados.